

**UNIVERSIDAD DE CUENCA**



**Facultad de Ciencias Químicas**

**Carrera de Ingeniería Química**

**“Aprovechamiento del suero lácteo para la formulación de una bebida energética”**

Trabajo de titulación previo a la obtención  
del título de Ingeniero Químico

**Autor:**

José Luis Pérez Ullaguari

CI: 091850433-3

**Directora**

Ing. Patricia Liliana Ramírez Jimbo

CI: 010354298-1

**Cuenca-Ecuador**

**2019**



## RESUMEN

El presente trabajo consiste en la formulación de una bebida energética a partir del suero lácteo procedente de la industria quesera.

Como primer punto se realizó el proceso de clarificación del suero para eliminar partículas extrañas, así como también olores y sabores desagradables. Se utilizó 4 métodos de clarificación y se seleccionó aquel que dio como resultado un suero más limpio y sobre todo aquel que no elimine los componentes nutritivos de la bebida. Como medios clarificantes se utilizó: Carbón activado, gelatina sin sabor, albumina (clara de huevo) y carragenato de sodio. Se realizaron análisis fisicoquímicos al suero tanto antes como después del proceso de clarificación.

La bebida energética está compuesta, además de los componentes principales del suero, de: cafeína, acesulfame K, glucosa y sacarosa. Se agregó también saborizantes naturales y acidulantes. Se realizó un diseño experimental, en donde se variaron las concentraciones de cafeína, glucosa y sacarosa, obteniendo un total de 5 fórmulas, posteriormente, mediante encuestas a estudiantes universitarios, se seleccionó aquella que tenga mayor aceptabilidad sensorial.

En este trabajo también se evaluó la vida de anaquel de la bebida, en donde, por un periodo de tiempo de 31 días, el producto fue almacenado en diferentes ambientes y condiciones (temperatura ambiente y refrigeración). Se evaluarán parámetros como: color, olor, °Brix y pH y se determinó la vida útil de la bebida, así como las condiciones óptimas para su conservación y almacenamiento.

**Palabras clave:** suero de leche, cafeína, bebidas energizantes, bebidas funcionales, edulcorantes, clarificantes, carbón activado.



## ABSTRACT

The present work consists in the formulation of an energy drink from milk whey from the cheese industry.

As a first point, the clarification process of the whey was performed to eliminate foreign particles, as well as unpleasant odors and tastes. Four clarification methods were used and the one that resulted in a cleaner serum was selected, especially the one that does not eliminate the nutritive components of the beverage. The clarifying media used: Activated carbon, unflavored gelatin, albumin (egg white) and sodium carrageenan. Physicochemical analyzes were performed on the serum both before and after the clarification process.

The energy drink is composed, in addition to the main components of whey (proteins, vitamins, certain minerals), of: caffeine, acesulfame K, glucose and sucrose. It also added natural flavorings, acidulants. An experimental design was carried out, where caffeine, glucose and sucrose were varied, obtaining a total of 5 formulations, of which, by means of surveys to university students, it was selected so that it has greater sensory acceptance.

In this work, the shelf life of the drink was also evaluated, where, for a period of 31 days, the product was stored in different environments and conditions (room temperature and refrigeration). The parameters evaluated were: color, odor, ° Brix and pH and the useful life of the drink was determined, as well as the optimal conditions for its conservation and storage.

**Key words:** whey, caffeine, energy drinks, functional drinks, sweeteners, clarifiers, activated carbon.



## TABLA DE CONTENIDO

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>16</b>
<b>OBJETIVO GENERAL:.....</b>	<b>17</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....</b>	<b>17</b>
<b>1. MARCO CONCEPTUAL Y TEORICO .....</b>	<b>18</b>
<b>1.1. PRODUCCIÓN Y DESTINO DE LA LECHE EN EL ECUADOR .....</b>	<b>18</b>
1.1.1. Producción de leche en el Ecuador .....	18
1.1.2. Destino de la leche en el ecuador.....	18
1.1.3. Destino de la leche en la Industria .....	19
<b>1.2. SUERO LÁCTEO .....</b>	<b>19</b>
1.2.1. Clasificación de los diferentes tipos de suero .....	20
1.2.2. Requisitos .....	20
1.2.3. Requisitos fisicoquímicos y microbiológicos del suero de leche .....	20
1.2.4. Contenido nutricional .....	21
1.2.5. Proteínas y aminoácidos en el suero del suero lácteo .....	22
1.2.6. Vitaminas en el suero lácteo.....	23
1.2.7. Obtención del suero lácteo .....	24
1.2.8. Almacenamiento del suero lácteo .....	24
1.2.9. Usos del suero lácteo .....	24
<b>1.3. BEBIDAS ENERGÉTICAS .....</b>	<b>25</b>
1.3.1. Composición.....	25
1.3.2. Bebidas energéticas. Requisitos .....	26
1.3.3. Cafeína .....	27
1.3.3.1. Propiedades fisicoquímicas.....	27
1.3.3.2. Principales fuentes.....	27
1.3.3.3. Efectos .....	28
1.3.4. Edulcorantes.....	29
1.3.4.1. Acesulfame K.....	29
1.3.4.2. Glucosa (Dextrosa).....	30
<b>2. CAPITULO: DISEÑO DEL TRABAJO .....</b>	<b>31</b>
<b>2.1. LOCALIZACIÓN DEL TRABAJO .....</b>	<b>31</b>
<b>2.2. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO .....</b>	<b>31</b>
<b>2.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS .....</b>	<b>32</b>
<b>2.4. RECEPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA .....</b>	<b>32</b>
<b>2.5. DESCRIPCION DE LAS MATERIAS PRIMAS.....</b>	<b>32</b>



2.5.1.	Suero Lácteo:	32
2.5.2.	Cafeína:	33
2.5.3.	Acesulfame K:	33
2.5.4.	Glucosa sólida:	33
2.5.5.	Pulpa de fruta (mora):	33
2.5.6.	Ácido cítrico:	33
2.5.7.	Benzoato de sodio:	33
2.6.	DESCRIPCIÓN DE LOS PROCESOS DE CLARIFICACIÓN	34
2.6.1.	Clarificación con carbón activado	34
2.6.1.1.	Procedimiento:	34
2.6.1.2.	Diagrama del proceso de clarificación con carbón activado	34
2.6.2.	Clarificación con Gelatina sin sabor	35
2.6.2.1.	Procedimiento:	35
2.6.2.2.	Diagrama del proceso de clarificación con gelatina sin sabor	35
2.6.3.	Clarificación con Albumina/Clara de huevo	36
2.6.3.1.	Procedimiento:	36
2.6.3.2.	Diagrama del proceso de clarificación con Albumina/Clara de huevo	36
2.6.4.	Clarificación con carragenato de sodio	37
2.6.4.1.	Procedimiento:	37
2.6.4.2.	Diagrama del proceso de clarificación con carragenato de sodio	37
2.7.	DESCRIPCION DE LOS PROCESOS DE ELABORACION DE LA BEBIDA	38
2.7.1.	Procedimiento	38
2.7.2.	Diagrama de bloque: Elaboración de la bebida energética:	40
2.8.	DISEÑO EXPERIMENTAL: FORMULACION DE LA BEBIDA ENERGETICA	41
2.9.	DETERMINACION DE LA VIDA DE ANAQUEL DE ANAQUEL DE LA BEBIDA	42
2.10.	DESCRIPCION DE LOS ANALISIS FISICO-QUIMICOS REALIZADOS AL SUERO LACTEO	42
2.10.1.	Análisis de calidad del suero lácteo	42
2.10.1.1.	Procedimiento	43
2.10.2.	Determinación de la acidez titulable	43
2.10.2.1.	Fundamento	43
2.10.2.2.	Materiales y reactivos	43
2.10.2.3.	Procedimiento	44



2.10.2.4.	Diagrama de flujo: Determinación de la acidez titulable .....	45
2.10.3.	Determinación del pH .....	45
2.10.3.1.	Fundamento .....	45
2.10.3.2.	Equipos y reactivos .....	46
2.10.3.3.	Procedimiento .....	46
2.10.3.4.	Diagrama del flujo: Determinación del pH .....	47
2.10.4.	Análisis de proteína y grasa en el suero lácteo .....	47
2.10.4.1.	Diagrama de bloque: Análisis de proteína, grasa % agua y densidad .....	48
2.11.	DESCRIPCION DE LOS ANALISIS MICROBIOLOGICOS REALIZADOS AL SUERO LACTEO .....	48
2.11.1.	Recuento de microorganismos aerobios mesófilos .....	48
2.11.1.1.	Fundamento: .....	48
2.11.2.	Recuento de Escherichia coli .....	49
2.11.2.1.	Fundamento .....	49
2.11.3.	Recuento de Staphylococcus aureus .....	52
2.11.3.1.	Fundamento: .....	52
2.11.4.	Detección de salmonella .....	52
2.11.4.1.	Fundamento: .....	52
2.12.	DESCRIPCIÓN DE LOS ANALISIS FISICO QUÍMICOS DE LA BEBIDA ENERGÉTICA .....	53
2.12.1.	Determinación del pH .....	53
2.12.1.1.	Fundamento .....	53
2.12.1.2.	Equipos y reactivos .....	54
2.12.1.3.	Procedimiento: .....	54
2.12.1.4.	Diagrama: Determinación del PH .....	54
2.12.2.	Determinación del % de grasa .....	55
2.12.2.1.	Fundamento: .....	55
2.12.2.2.	Materiales y reactivos .....	55
2.12.2.3.	Procedimiento: .....	55
2.12.2.4.	Diagrama: Proceso de determinación del contenido graso en la bebida energética .....	57
2.12.3.	Determinación del % de proteínas .....	57
2.12.3.1.	Fundamento .....	58
2.12.3.2.	Materiales, equipos y reactivos .....	58
2.12.3.3.	Procedimiento .....	59
2.12.3.4.	Diagrama: Determinación del contenido proteico .....	61



2.12.4.	Determinación del % de glúcidos .....	61
2.12.4.1.	Fundamento .....	61
2.12.4.2.	Procedimiento: .....	62
2.12.4.3.	Diagrama: Proceso de determinación del % de glúcidos .....	63
2.13.	DESCRIPCIÓN DE LOS ANALISIS MICROBIOLÓGICOS REALIZADOS AL PRODUCTO FINAL (BEBIDA ENERGÉTICA) .....	64
3.	RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	64
3.1.	ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL SUERO DE LÁCTEO .....	64
3.1.1.	Acidez del suero de leche.....	64
3.1.2.	pH del suero de leche.....	64
3.1.3.	Resultado de los análisis del % de grasa, % de proteína, densidad, agua, del suero lácteo.....	64
3.1.4.	Resultado de los análisis microbiológicos .....	65
3.2.	RESULTADO DE LOS PROCESOS DE CLARIFICACIÓN DEL SUERO LÁCTEO .....	65
3.2.1.	Clarificación con gelatina industrial .....	65
3.2.2.	Clarificación con albumina (clara de huevo) .....	66
3.2.3.	Clarificación con carbón activado.....	67
3.2.4.	Clarificación con carragenato de sodio .....	67
3.2.5.	Selección del método de clarificación .....	68
3.3.	RESULTADO DE LOS ANALISIS BROMATOLOGICOS DEL PRODUCTO FINAL.....	69
3.4.	DETERMINACIÓN DE LA ACEPTACIÓN SENSORIAL DE LA BEBIDA .....	70
3.5.	DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL DE LA BEBIDA.....	77
3.5.1.	Variación del pH contra el tiempo .....	78
3.5.2.	Variación de los °Brix contra el tiempo.....	79
3.5.3.	Variación del sabor contra el tiempo .....	80
3.5.4.	Variación del color contra el tiempo .....	80
3.5.5.	Resultado de los análisis microbiológicos del producto final .....	81
3.6.	INFORMACIÓN NUTRICIONAL DE LA BEBIDA .....	82
4.	CONCLUSIONES.....	83
5.	RECOMENDACIONES .....	84
6.	BIBLIOGRAFIA.....	85
7.	ANEXOS.....	88
7.1.	Anexo 1: Resultado de los análisis.....	88
7.2.	Anexo 2: Encuesta .....	91



<b>7.3. Etiqueta final. Bebida energética.....</b>	<b>94</b>
<b>7.4. Anexo 4: Fotografías .....</b>	<b>95</b>





## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción de leche por regiones en el Ecuador .....	18
Tabla 2. Destino de la producción de leche en el ecuador .....	18
Tabla 3. Clasificación del suero lácteo .....	20
Tabla 4. Requisitos fisicoquímicos del suero lácteo .....	21
Tabla 5. Requisitos microbiológicos del suero lácteo .....	21
Tabla 6. Composición del suero de leche dulce ácido .....	22
Tabla 7. Comparación de la cantidad de aminoácidos esenciales en el suero lácteo y huevos (g/100 g proteína) .....	23
Tabla 8. Contenido de vitaminas en el suero lácteo .....	24
Tabla 9. Niveles máximos de consumo tolerable de vitaminas para bebidas energéticas .....	26
Tabla 10. Requisitos químicos para bebidas energéticas .....	26
Tabla 11. Requisitos microbiológicos para bebidas energéticas a base de suero lácteo .....	27
Tabla 12. Principales fuentes de cafeína .....	28
Tabla 13. Materiales, equipos y reactivos .....	32
Tabla 14. Diseño experimental, formulación de la bebida energética. ....	41
Tabla 15. Materiales y reactivos (Determinación de la acidez titulable). ....	43
Tabla 16. Materiales y reactivos (Determinación del pH en el suero lácteo). ....	46
Tabla 17. Materiales y reactivos (Determinación del pH, bebida energética). ....	54
Tabla 18. Materiales (Determinación del % de grasa en la bebida energética). ....	55
Tabla 19. Reactivos (Determinación del % de grasa en la bebida energética). ....	55
Tabla 20. Materiales, equipos y reactivos (Determinación del contenido proteico en la bebida fermentada. ....	58
Tabla 21. Datos. Determinación de la acidez titulable del suero lácteo. ....	64
Tabla 22. Resultado de los análisis fisicoquímicos del suero lácteo. ....	64
Tabla 23. Análisis microbiológico del suero lácteo. ....	65
Tabla 24. Resultados de los análisis fisicoquímicos del suero lácteo clarificado con gelatina industrial. ....	66
Tabla 25. Resultados de los análisis fisicoquímicos del suero lácteo clarificado con albumina (clara de huevo). ....	66
Tabla 26. Resultados de los análisis fisicoquímicos del suero lácteo clarificado con carbón activado. ....	67
Tabla 27. Resultados de los análisis fisicoquímicos del suero lácteo clarificado con carragenato de sodio. ....	67
Tabla 28. Resultado de los análisis bromatológicos (producto final). ....	69
Tabla 29. Diseño experimental. Formulaciones analizadas. ....	71
Tabla 30. Tabulación de las encuestas. Evaluación sensorial de la bebida. ....	72
Tabla 31. Tabulación de las encuestas realizadas. Evaluación sensorial de la bebida. Fórmula 2. ....	73
Tabla 32. Tabulación de las encuestas realizadas. Evaluación sensorial de la bebida. Fórmula 3. ....	74
Tabla 33. Tabulación de las encuestas realizadas. Evaluación sensorial de la bebida. Fórmula 4. ....	75
Tabla 34. Tabulación de las encuestas realizadas. Evaluación sensorial de la bebida. Fórmula 5. ....	76
Tabla 35. Formulación final de la bebida .....	77



Tabla 36. Variación del pH contra el tiempo (Bebida energizante). .....	78
Tabla 37. Variación de los °Brix contra el tiempo (bebida energizante). .....	79
Tabla 38. Variación del sabor contra el tiempo (bebida energizante). .....	80
Tabla 39. Variación del color contra el tiempo (Bebida energizante). .....	81
Tabla 40. Análisis microbiológico de la bebida energética. ....	82
Tabla 41. Información nutricional del producto final. ....	82

## ÍNDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama 1. Proceso de clarificación con carbón activado Fuente: Autor .....	34
Diagrama 2: Proceso de clarificación con gelatina sin sabor Fuente: Autor .....	35
Diagrama 3. Proceso de clarificación con albumina/clara de huevo Fuente: Autor .....	36
Diagrama 4: Proceso de clarificación con carragenato de sodio Fuente: Autor .....	37
Diagrama 5: Elaboración de la bebida energética Fuente: Autor .....	40
Diagrama 6: Determinación de la acidez titulable Fuente: Autor .....	45
Diagrama 7. Determinación del pH Fuente: Autor .....	47
Diagrama 8: Determinación de grasa, proteína, agua y densidad. Milkotester Fuente: Autor .....	48
Diagrama 9: Proceso del recuento de Aerobios mesófilos Fuente: Autor .....	49
Diagrama 10: Proceso del recuento de E. coli Fuente: Autor .....	51
Diagrama 11: Detección de Salmonella Fuente: Autor .....	53
Diagrama 12. Determinación del pH (Bebida energética) Fuente: Autor .....	54
Diagrama 13. Proceso de determinación del contenido graso en la bebida energética Fuente: Autor .....	57
Diagrama 14: Proceso de determinación del contenido proteico en la bebida energética Fuente: Autor .....	61
Diagrama 15: Determinación del % de glúcidos en la bebida energética Fuente: Autor .....	63

## INDICE DE IMAGENES

Imagen 1: Suero lácteo sin clarificar.....	68
Imagen 2: Suero lácteo clarificado con gelatina sin sabor .....	69
Imagen 3: Suero lácteo clarificado con albumina .....	69
Imagen 4: Suero lácteo clarificado con carbón activado.....	69
Imagen 5: Suero lácteo clarificado con carragenato de sodio .....	69
Imagen 6: Etiqueta. Bebida energética .....	94
Imagen 7: Filtración del suero lácteo .....	95
Imagen 8: Pasteurización del suero lácteo .....	95
Imagen 9: Clarificación del suero lácteo .....	95
Imagen 10: Dosificación de ingredientes .....	95
Imagen 11: Pasteurización de la fruta (mora) .....	95
Imagen 12: Licuado de la fruta (mora) .....	95
Imagen 13: Envasado de la pulpa de fruta (mora).....	96
Imagen 14: Esterilización de envases .....	96
Imagen 15: Generación de vacío (baño maría).....	96
Imagen 16: Envasado y almacenamiento del producto final .....	96



Imagen 17: Productos finales .....	96
Imagen 18: Determinación de la acidez del suero lácteo .....	97
Imagen 19: Determinación del pH del suero lácteo .....	97
Imagen 20: Encuestas de aceptación del producto .....	97

## INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Tabulación pregunta 1. ¿Consume Bebidas energéticas? Fuente: Autor .....	71
Gráfico 2: Tabulación pregunta 2. ¿Conoce algún producto elaborado a partir de suero lácteo? Fuente: Autor .....	72
Gráfico 3: Resultado de las encuestas. Evaluación sensorial del producto. Fórmula 1. Fuente: Autor .....	73
Gráfico 4: Resultado de las encuestas. Evaluación sensorial del producto. Fórmula 2. Fuente: Autor .....	74
Gráfico 5: Resultado de las encuestas. Evaluación sensorial del producto. Fórmula 3. Fuente: Autor .....	75
Gráfico 6: Resultado de las encuestas. Evaluación sensorial del producto. Fórmula 4. Fuente: Autor .....	76
Gráfico 7: Resultado de las encuestas. Evaluación sensorial del producto. Fórmula 4. Fuente: Autor .....	77
Gráfico 8: Variación del pH vs Tiempo de la bebida energizante Fuente: Autor .....	78
Gráfico 9: Variación de los °Brix vs Tiempo de la bebida energizante Fuente: Autor ...	79



### Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

---

José Luis Pérez Ullaguari en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "APROVECHAMIENTO DEL SUERO LÁCTEO PARA LA FORMULACIÓN DE UNA BEBIDA ENERGÉTICA", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 09 de enero del 2019

José Luis Pérez Ullaguari

C.I: 091850433-3



### CLAUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

---

José Luis Pérez Ullaguari, autor del trabajo de titulación "APROVECHAMIENTO DEL SUERO LACTEO PARA LA FORMULACIÓN DE UNA BEBIDA ENERGÉTICA", certifico que todas la ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad del autor.

Cuenca, 09 de Enero del 2019

---

Jose Luis Pérez Ullaguari

CI: 091850433-3



## AGRADECIMIENTOS

Principalmente a cada uno de los docentes que me guiaron con sus consejos, enseñanzas y experiencias a lo largo de toda mi carrera universitaria.

A la Universidad de Cuenca por permitirme estudiar y ser parte de una de las mejores universidades del país

A mi directora de tesis, Patricia Ramírez, por su amistad, su ayuda y soporte en el desarrollo de este trabajo de titulación.

A mis familiares por su confianza, su apoyo económico y darme la oportunidad de estudiar una carrera universitaria.



## DEDICATORIA

Este trabajo de titulación va dedicado de manera muy especial a mi abuelita Francisca quien ha sido madre, padre, abuela y amiga a lo largo de toda mi vida y ha hecho de mí la persona que soy hoy en día, quien fue siempre mi principal motivación. Este logro, sin duda, es completamente de ella, una mujer que dedico toda su vida a brindarme cariño y apoyo incondicional.

A mi hermana Verónica, a Delmy, por su confianza y apoyo, quienes confiaron completamente en mí y sabían que lograría cumplir esta meta.

A Karla y su familia por haber estado a mi lado a lo largo de todos estos años de estudio, por su gran cariño, por sus consejos y por la enorme confianza que pusieron en mí a los cuales no podía defraudar.



## INTRODUCCIÓN

La producción de quesos en el país consume enormes cantidades de leche, lo que genera grandes cantidades de suero lácteo. Se ha determinado, que, en la elaboración de quesos, aproximadamente el 80 % de la leche utilizada para este fin, se convierte en suero lácteo, es decir que por cada kilogramo de queso producido se genera 8 litros de suero lácteo como efluente.

El suero lácteo se caracteriza por su color verdusco, presenta un alto contenido nutricional, ya que este posee todos los componentes nutricionales que no lograron integrarse a la coagulación de la caseína en el proceso de elaboración de queso. Dentro de su composición se encuentran proteínas ( $\alpha$ -lacto-albumina y la  $\beta$ -lacto globulina), vitaminas (específicamente las del grupo B) y ciertos minerales como por ejemplo calcio y fósforo. El problema está en que, en la mayoría de los casos, este subproducto es considerado y tratado como desecho. Su desaprovechamiento y su mal manejo, produce claramente una gran contaminación ambiental. Una pequeña cantidad es utilizada como alimento para animales de granja y gran parte de este es desechado, lo que ha generado que muchas fuentes de agua cercanas a industrias queseras presenten un alto grado de contaminación, esto debido a que la carga de materia orgánica que contiene el suero provoca la reproducción de microorganismos, causando cambios en la demanda química de oxígeno del agua en la que es vertida.

En la actualidad, el consumo de bebidas energéticas en el Ecuador ha tenido un incremento importante, principalmente en adultos y jóvenes. Las bebidas energéticas tienen como principal objetivo mejorar e incrementar la resistencia física, aumentar la concentración, atención y vigilia. Este tipo de bebidas están compuestas principalmente de metilxantinas (como la cafeína), aminoácidos (Taurina) e hidratos de carbono. La glucosa es uno de los componentes principales de este tipo de bebidas, ya que generalmente se encuentra presente en grandes cantidades y junto con la cafeína, son la principal fuente de energía. Adicionalmente, algunas marcas reconocidas, agregan vitaminas y ciertos minerales a sus formulaciones.

Tomando en cuenta lo antes mencionado y el gran valor nutricional que posee el suero lácteo, aparece la necesidad de buscar nuevas alternativas para el uso y aprovechamiento de este subproducto. La solución a este problema está en la elaboración de una bebida energética que permita el aprovechamiento total de los nutrientes presentes en el suero lácteo y que genere satisfacción en el paladar a sus consumidores. El objetivo principal de este trabajo de investigación es formular una bebida energética aprovechando el suero lácteo procedente de la industria quesera,





utilizando como principal fuente energética cafeína y glucosa. Del total de componentes nutricionales que contiene la leche, aproximadamente el 50 % de estos permanecen en el suero lácteo. Si se toma en cuenta la composición de las bebidas energéticas que actualmente se comercializan en el Ecuador, estas contienen carbohidratos y ciertas vitaminas (principalmente las del grupo B), mismos componentes que, según investigaciones científicas, contiene el suero lácteo en cantidades significativas. Esto nos permite desarrollar una bebida energética con un alto valor nutricional, usando como base el suero lácteo, de esta manera se evita que este desecho sea vertido en fuentes de agua y genere una importante contaminación ambiental.

#### **OBJETIVO GENERAL:**

- Formular una bebida energética a partir del suero lácteo procedente de la industria quesera.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Analizar las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la materia prima (Suero Lácteo).
- Seleccionar el método más adecuado para la clarificación del suero lácteo a partir de: Carbón activado, gelatina sin sabor, albúmina y carragenato de sodio.
- Desarrollar una fórmula para la bebida energética a partir del diseño experimental.
- Analizar las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas del producto final
- Determinar la aceptación del producto desde el punto de vista organoléptico por parte del consumidor mediante un análisis sensorial de las diferentes formulaciones.



## 1. MARCO CONCEPTUAL Y TEORICO

### 1.1. PRODUCCIÓN Y DESTINO DE LA LECHE EN EL ECUADOR

#### 1.1.1. Producción de leche en el Ecuador

Según el Instituto Nacional de Estadística y Censo del Ecuador INEC, se muestra en la tabla 1 los siguientes datos con respecto a la producción de leche diaria en el Ecuador:

Tabla 1. *Producción de leche por regiones en el Ecuador*

Región	Producción total de leche (Litros)	%
<b>Sierra</b>	3.915.787	76,25%
<b>Costa</b>	1.009.644	19,66%
<b>Oriente</b>	207.898	4,05%
<b>Zonas no delimitadas</b>	2.075	0,04%
<b>TOTAL, NACIONAL</b>	5.135.405	100%

Fuente: INEC (Encuesta de superficie y producción agropecuaria Continua 2017)

En el Ecuador es de suma importancia la producción diaria de leche, ya que aporta al desarrollo tanto económico como productivo del mismo y a su vez genera mayores ingresos a través de la apertura de nuevas oportunidades de empleo en el país. Diariamente se producen en el Ecuador 5.135.405 litros de leche, de los cuales el 76,25% se genera en la región sierra, 19,66% en la región costa, 4,05% en el oriente y 0,04% se producen en el resto del país.

#### 1.1.2. Destino de la leche en el ecuador

Tabla 2. *Destino de la producción de leche en el ecuador*

Región y provincia	Producción total de leche (litros)	DESTINO PRINCIPAL DE LA LECHE (Litros)				
		Vendida en líquido	Consumo en los terrenos	Alimentación al balde	Procesada en los terrenos	Destinada a otros fines
<b>Total, nacional</b>	<b>5.135.405</b>	<b>3.714.124</b>	<b>374.087</b>	<b>72.313</b>	<b>963.321</b>	<b>11.559</b>
<b>Región sierra</b>	3.915.787	3.249.353	266.180	65.816	324.283	10.155
<b>Región costa</b>	1.009.644	370.865	85.337	2.842	549.684	915
<b>Región oriental</b>	207.898	92.492	22.479	3.551	88.887	489
<b>Zonas no delimitadas</b>	2.075	1.414	90	104	467	
<b>%</b>	<b>100%</b>	<b>72,32 %</b>	<b>7,28 %</b>	<b>1,41 %</b>	<b>18,76 %</b>	<b>0,23 %</b>

FUENTE: INEC (Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua 2017)



La información ilustrada en la tabla 2 muestra el destino de la producción de leche en el Ecuador, según la encuesta de superficie y producción agropecuaria continua 2017 realizada por el Instituto Nacional de Estadística Y Censo (INEC).

La leche en el Ecuador tiene varios destinos, la mayor parte es vendida como leche líquida, representando el 72,32% del total de leche producida. El 7,28% se consumen en los terrenos, el 1,41% va destinado a la alimentación al balde, el 18,76% es procesada en los terrenos y el 0,23% es destinada para otros fines

### **1.1.3. Destino de la leche en la Industria**

Según datos del Centro de Industria Láctea (CIL), en el Ecuador se procesan 2.662.560 litros diarios de leche, destinando el 31 % a la elaboración de quesos; 27 % a la leche en funda; 20 % leche en cartón; 11 % para la leche en polvo; 10 % para yogurt y solamente el 1 % para elaborar otros productos lácteos.

En el Ecuador, diariamente, cerca de un millón de litros de leche se destinan a la producción de queso, de eso solamente 200 mil litros se transforman en queso propiamente mientras que 800 mil litros se convierten en suero de leche. (CIL)

El suero es usado, en pequeñas cantidades, como materia prima para la elaboración de galletas, embutidos, pan, entre otros. Anualmente el Ecuador importa concentrado de suero lácteo en un aproximado de los \$ 7, 5 millones el cual se utiliza como base para: Formulación de bebidas infantiles, elaboración de bebidas energéticas para deportistas y para la fabricación de productos farmacéuticos. Por otro lado, Ecuador consume cerca de \$80 millones en productos e insumos terminados a base de suero lácteo. (Centro de Industrias Láctea)

## **1.2. SUERO LÁCTEO**

Según la norma (INEN 2594, 2011) “Es el producto lácteo líquido obtenido durante la elaboración del queso, la caseína o productos similares, mediante la separación de la cuajada, después de la coagulación de la leche pasteurizada y/o los productos derivados de la leche pasteurizada”.

Es un líquido verduzco de alto valor nutritivo, contiene más del 50 % del total de sólidos de la leche, entre los que se encuentran: proteínas, vitaminas, carbohidratos y ciertos minerales. Se produce por la acción de una enzima llamada quimosina, cuya función es separar la caseína sólida de la parte líquida, produciéndose de esta manera el suero lácteo. (Cuellas & Wagner, 2010)

El suero lácteo es considerado un producto de enorme valor nutritivo, debido a que la concentración de proteínas, vitaminas y minerales presentes en el mismo es



significativa con respecto al total de los mismos presentes en la leche entera. Se ha determinado que el contenido proteico del suero lácteo es similar a la de un huevo. Los principales minerales que se encuentran en el suero son: Calcio, potasio, fósforo y magnesio. El suero lácteo también contiene cantidades significativas de vitaminas, específicamente del grupo B: Piridoxina, riboflavina, timina, ácido nicotínico y ácido pantoténico. (Hernández-Rojas & Vélez-Ruiz, 2014)

### 1.2.1. Clasificación de los diferentes tipos de suero

Según la norma (INEN 2594, 2011) “Suero de leche ácido: Es el producto lácteo líquido obtenido durante la elaboración del queso, la caseína o productos similares, mediante la separación de la cuajada, después de la coagulación de la leche pasteurizada y/o los productos derivados de la leche pasteurizada. La coagulación se produce principalmente, por acidificación química y/o bacteriana”.

Según la norma (INEN 2594, 2011) “Suero de leche dulce: Es el suero, definido en el apartado anterior, en el cual el contenido de lactosa es superior y la acidez es menor a la que presenta el suero de leche ácida”.

Clasificación del suero lácteo, según su acidez, se indica en la tabla 3.

Tabla 3. *Clasificación del suero lácteo*

Tipo de suero	Acidez (%)		pH	
	Min	Max	Min	Max
<b>Suero Dulce</b>	-	0.16	6.4	6.8
<b>Suero ácido</b>	0.35	-	4.8	5.5

Fuente: (INEN 2594, 2011)

### 1.2.2. Requisitos

El suero lácteo debe cumplir con los requisitos establecidos en la norma ecuatoriana INEN 2594-2011.

Los requisitos tanto fisicoquímicos como microbiológicos se presentan en la Tabla 4 y 5 respectivamente.

### 1.2.3. Requisitos fisicoquímicos y microbiológicos del suero de leche

Requisitos fisicoquímicos, que debe cumplir el suero lácteo, se indica en la tabla 4.

Tabla 4. *Requisitos fisicoquímicos del suero lácteo*

Requisitos	Suero de leche dulce		Suero de leche ácido	
	Min.	Max.	Min.	Max.
<b>Lactosa, % (m/m)</b>	-	5	-	4,3
<b>Proteína láctea, % (m/m)</b>	0,8	-	0,8	-
<b>Grasa láctea, % (m/m)</b>	--	0,3	-	0,3
<b>Ceniza. % (m/m)</b>	-	0,7	-	0,7
<b>Acidez titulable, % (como ácido láctico)</b>	--	0,16	0,35	-
<b>pH</b>	6,8	6,4	5,5	4,8

Fuente: (INEN 2594, 2011)

El suero lácteo debe cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la tabla 5

Tabla 5. *Requisitos microbiológicos del suero lácteo*

Requisito	N	m	M	C
<b>Recuento de microorganismos aerobios mesófilos ufc/g.</b>	5	30 000	100 000	1
<b>Recuento de Escherichia coli ufc/g.</b>	5	<10	-	0
<b>Staphylococcus aureus ufc/g</b>	5	<100	100	1
<b>Salmonella/25g.</b>	5	Ausencia	-	0
<b>Detección de Listeria monocitogenes/25g.</b>	5	ausencia	-	0

Fuente: (INEN 2594, 2011)

Donde:

- n= Número de muestras a examinar
- m= Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad
- M= Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad
- c= Número de muestras permisibles con resultados entre m y M

#### 1.2.4. Contenido nutricional

El suero lácteo retiene más del 50 % del total de nutrientes que se encuentran en la leche entera. Este contiene aproximadamente el 20 % de las proteínas (Lactoalbúminas y lactoglobulinas), gran parte de la lactosa, ciertos minerales como: calcio, fósforo y magnesios. Además, también contiene cantidades significativas de vitaminas del grupo B.

En la Tabla 6, se expresa la concentración de los principales componentes del suero lácteo.

Tabla 6. *Composición del suero de leche dulce ácido*

Componente	Suero lácteo dulce (g/L)	Suero lácteo Acido (g/L)
<b>Sólidos totales</b>	63-70	63-70
<b>Lactosa</b>	46-52	44-46
<b>Grasa</b>	0-5	0-5
<b>Proteína</b>	6-10	6-8
<b>Calcio</b>	0.4-0.6	1.2-1.6
<b>Fósforo</b>	0.4-0.7	0.5-0.8
<b>Potasio</b>	1.4-1.6	1.4-1.6
<b>Cloruros</b>	2-2.2	2-2.2

Fuente: (Hernández-Rojas &amp; Vélez-Ruíz, 2014)

### 1.2.5. Proteínas y aminoácidos en el suero del suero lácteo

Las proteínas que se encuentran en el suero lácteo son de alto valor biológico. Mientras mayor sea la capacidad de la proteína de ofrecerle nitrógeno al organismo, presenta mayor valor biológico. Las proteínas contenidas en el suero, se denominan caseínas solubles, esto debido a que estas sustancias no se precipitan cuando la leche presenta un pH de 4,6 que es el valor que corresponde al punto isoeléctrico de la caseína bruta. (Hernández-Rojas & Vélez-Ruíz, 2014)

Las proteínas del suero son consideradas de alto valor biológico debido a su contenido en aminoácidos esenciales. La calidad de una proteína hace referencia a la capacidad para proporcionar nitrógeno en un patrón equivalente de aminoácidos esenciales y no esenciales. (Hernández-Rojas & Vélez-Ruíz, 2014)

Las proteínas del suero lácteo representan el 18-20 % del total de proteínas presentes en la leche, si bien no representa la fracción más importante, si lo es si se analiza desde el punto de vista nutricional y económico. Las principales proteínas que podemos encontrar en el suero lácteo son:  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoglobulina, albumina del suero sanguíneo e inmunoglobulinas. En proporciones menores también se encuentran: Lactoferrina, transferrina y lactolin propeosa-peptona. (Hernández-Rojas & Vélez-Ruíz, 2014).

Las proteínas más importantes y sus respectivas funciones se describen a continuación:



- *$\beta$ -lactoglobulina*: Cumple una función transportadora (retinol, palmitol, ácidos grasos, vitamina D y colesterol) (Hernández-Rojas & Vélez-Ruíz, 2014)
- *$\alpha$ -lactoglobulina*: Previene el cáncer, ayuda a la síntesis de lactosa.
- *Albuminas*: Función anti mutagénica, prevención del cáncer, función inmunomodulación. (Hernández-Rojas & Vélez-Ruíz, 2014)
- *Inmunoglobulinas*: Mejora el tratamiento y prevención de enfermedades microbianas (infecciones de las vías respiratorias, gastritis, diarrea) (Hernández-Rojas & Vélez-Ruíz, 2014)

En conjunto, todas las proteínas del suero lácteo contienen todos los aminoácidos esenciales requeridos, ver Tabla 7. Inclusive poseen más o igual aminoácidos esenciales que la proteína del huevo, la caseína y la soya. Debido a su rica fuente de aminoácidos que presentan estas proteínas, son de vital importancia en las bebidas que toman los deportistas para mejorar su nutrición. (Loaiza, 2011)

Tabla 7. Comparación de la cantidad de aminoácidos esenciales en el suero lácteo y huevos (g/100 g proteína)

Aminoácido	Suero Lácteo	Huevo	Equilibrio recomendado por la FAO
Treonina	6,2	4,9	3,5
Cisteína	1,0	2,8	2,6
Metionina	2,0	3,4	2,6
Valina	6,0	6,4	4,8
Leucina	9,5	8,5	7,0
Isoleucina	5,9	5,2	4,2
Fenilalanina	3,6	5,2	7,3
Lisina	9,0	6,2	5,1
Histidina	1,8	2,6	1,7
Triptófano	1,5	1,6	1,1

Fuente: (Linden, Lorient, & Carballo García, 1994)

#### 1.2.6. Vitaminas en el suero lácteo

El suero lácteo contiene una fracción importante de vitaminas del complejo B (hidrosolubles). Las principales vitaminas presentes en el suero son: B1, B2, B3, B5, B12 y ácido ascórbico o vitamina C

Son muy escasas las vitaminas liposolubles, debido a que como ya se mencionó, el suero es un subproducto del proceso de fabricación del queso, por lo tanto, casi toda la grasa forma parte de éste. (Linden et al., 1994).

La tabla 8 expresa las concentraciones vitaminas presentes en el suero lácteo y necesidades diarias del mismo.

Tabla 8. *Contenido de vitaminas en el suero lácteo*

Vitamina	Concentración (mg/ml)	Necesidades diarias (mg)
<b>B1 (tiamina)</b>	0,38	1,5
<b>B2 (riboflavina)</b>	1,2	1,5
<b>B3 (ácido nicotínico)</b>	0,85	10-20
<b>B5 (ácido pantoténico)</b>	3,4	10
<b>B6 (piridoxina)</b>	0,42	1,5
<b>B12 (cobalamina)</b>	0,003	2
<b>Ácido ascórbico (vitamina C)</b>	2,2	10-75

Fuente: (Linden et al., 1994)

### 1.2.7. Obtención del suero lácteo

El suero lácteo es la porción líquida que se obtiene por medio de la coagulación de la caseína durante el proceso de fabricación de queso. El proceso de obtención inicia con la pasteurización de la leche cruda, luego se le añade cuajo, el cual por la acción de la enzima quimosina, separa la caseína del suero. El líquido que se produce al separar la masa semisólida (Caseína) se denomina suero lácteo o también llamado lactosuero.

### 1.2.8. Almacenamiento del suero lácteo

El suero lácteo debe ser almacenado a una temperatura de entre 4 y 6 °C, con el objetivo que se produzca el menor cambio posible de sus propiedades fisicoquímicas, durante el almacenamiento y el transporte. Cuando se transporta el suero, sea este concentrado o no, la temperatura no debe superar los 10 °C, para de esta manera evitar cualquier crecimiento microbiológico no deseado. (Calidad del suero, INTI)

### 1.2.9. Usos del suero lácteo

EL suero de la leche ha sido utilizado, casi siempre, como alimento para animales de granja, sin embargo, esto aumenta la probabilidad de que los animales que lo consumen desarrollen problemas como diarrea, el problema se debe principalmente a que no metabolizan de forma adecuada la lactosa presente en el suero. (Loaiza, 2011)

Al suero lácteo se lo utiliza para el desarrollo de otro tipo de quesos, que, por medio de un tratamiento, se induce la coagulación de las proteínas lacto séricas, en condiciones ácidas y en presencia de calcio. A estos quesos se los conoce comúnmente como ricota, ricottone o requesón. (Potti, D. 2007)

Otro uso del suero lácteo es en la producción de suero en polvo dulce y ácido, de esta manera se aprovecha todas las proteínas que contiene este subproducto.

El suero lácteo es muy utilizado como ingrediente en la elaboración de varios alimentos como: productos de panadería, quesos, bebidas, postres, confitería y productos cárnicos. La función principal del suero lácteo en estos alimentos es





incrementar su valor nutritivo. También cumple una función emulgente y gelificante en los mismos y contribuye al mejoramiento de su textura. (Poveda, 2013)

### **1.3. BEBIDAS ENERGÉTICAS**

Las Bebidas Energéticas son bebidas analcohólicas, generalmente gasificadas, compuestas básicamente por cafeína e hidratos de carbono, azúcares diversos de distinta velocidad de absorción, más otros ingredientes, como aminoácidos, vitaminas, minerales, extractos vegetales, acompañados de aditivos acidulantes, conservantes, saborizantes y colorantes. Se las puede ubicar como un alimento funcional, ya que han sido diseñadas para proporcionar un beneficio específico, el de brindar al consumidor una bebida que le ofrezca vitalidad cuando, por propia decisión o necesidad, debe actuar ante esfuerzos extras, físicos o mentales. (Melgarejo, 2011)

Las bebidas energéticas son un tipo de bebidas promocionadas como una manera de disminuir la fatiga, mantener la vigilia, mejorar el rendimiento y mejora las capacidades cognitivas ante situaciones de estrés. (Itany M, 2014).

Este tipo de bebidas es consumido mayormente por adolescentes y adultos jóvenes, principalmente para mejorar su rendimiento intelectual (Itany M, 2014).

Se ha determinado que existen más de 300 variedades de bebidas energéticas en el mundo de las cuales aproximadamente un 60 % proviene de EE. UU. En el 2008 la industria de las bebidas energizantes alcanzó ventas mundiales de 26,9 mil millones de dólares, siendo considerada este tipo de bebidas como las más vendida entre la población joven. (Malinauskas, 2007)

#### **1.3.1. Composición**

Las bebidas energéticas están compuestas principalmente de metilxantinas (como por ejemplo la cafeína), aminoácidos taurina y L-carnitina y el carbohidrato glucoronolactona. Algunas bebidas reemplazan la cafeína por guaraná, sin embargo, se ha estimado que cada gramo de guaraná posee 36,8 mg de cafeína. (Mazzafera, de Carvalho Gonçalves, SCHIMPL, & DA SILVA, 2013)

Otro componente importante de este tipo de bebidas es la glucosa, que naturalmente se encuentra presente en altas concentraciones, la cual puede mejorar el rendimiento de la memoria espacial, lógica, de corto y largo plazo. (Giles et al., 2012)

Algunas marcas importantes de estas bebidas adicionan también vitaminas, minerales y componentes no especificados, sino solo mencionados de forma genérica. (Higgins, Tuttle, & Higgins, 2010)



### 1.3.2. Bebidas energéticas. Requisitos

Las bebidas energéticas deben contener, en su composición, las cantidades máximas de los aditivos alimentarios especificados en la NTE INEN-CODEX 192 (INEN 2411, 2015)

Las bebidas energéticas deben proporcionar un valor calórico mínimo de 44 Kcal/100 ml, calculados de acuerdo con el NTE INEN 1334-2

Las bebidas energéticas deben tener un contenido de vitaminas y minerales equivalentes al 7,5 % de la ingesta diaria recomendada por la OMS/FAO y cumplir con los niveles máximos de consumo tolerable especificados en la Tabla 9.

Tabla 9. *Niveles máximos de consumo tolerable de vitaminas para bebidas energéticas*

Requisito	Unidad	Nivel máximo de consumo tolerable (UL)	Método de ensayo
Tiamina (Vit. B1)	mg	100	AOAC 2011.15
Riboflavina (Vit. B2)	mg	40	UNE-EN 14122
Ácido nicotínico (Vit. B3)	mg	10	UNE-EN 15652
Nicotinamida	mg	900	UNE-EN 15652
Ácido pantoténico (Vit. B5)	mg	200	AOAC 2012.16
Piridoxina (Vit. B6)	mg	25	UNE-EN 14164
Cianocobalamina (Vit. B12)	mg	2000	AOAC 2011.09
Ácido ascórbico (Vit. C)	mg	1000	AOAC 2012.22

Fuente: (INEN 2411,2015)

Las bebidas energéticas deben cumplir con los requisitos químicos establecidos en la tabla 10.

Tabla 10. *Requisitos químicos para bebidas energéticas*

Requisito	Unidad	Mín.	Máx.	Método de ensayo
Cafeína	mg/L	250	320	AOAC 962.13
Taurina	mg/L		4000	HPLC
Glucoronolactona	mg/L		2400	HPLC
Caritina	mg/L		500	HPLC

Fuente: (INEN 2411,2015)

En la tabla 11, se indican los requisitos microbiológicos que deben cumplir las bebidas energéticas.

Tabla 11. *Requisitos microbiológicos para bebidas energéticas a base de suero lácteo*

Requisito	Unidad	Caso	N	C	m	M	Método de ensayo
Levaduras	UFC/ml	1	5	3	30 000	100 000	NTE INEN 1 529-5

Donde:

- n= Número de muestras a examinar
- m= Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad
- M= Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad
- c= Número de muestras permisibles con resultados entre m y M

Fuente: (INEN 2609, 2012)

### 1.3.3. Cafeína

La cafeína es una molécula que existe en estado natural en plantas originarias en distintas partes del mundo, es un derivado de la xantina. También se la denomina teína, guaranina o mateína. (Lozano, García, Tafalla, & Albaladejo, 2007)

Es un compuesto alcaloide, se obtiene principalmente de los granos de café, también se encuentra presentes en otro tipo de plantas como el té y la guaraná. (Silva, 2015)

#### 1.3.3.1. *Propiedades fisicoquímicas*

La cafeína es un polvo de color blanco y sabor amargo. Su nombre químico es 1,3,7-trimetilxantina, es un derivado de las xantinas que a su vez se derivan de las purinas. Es un alcaloide de purina, de masa molecular 194,19 g/mol. Su fórmula molecular es  $C_8H_{10}N_4O_2$ . La cafeína es descompuesta en soluciones cáusticas y forma sales inestables con ácidos. (Lozano et al., 2007)

#### 1.3.3.2. *Principales fuentes*

La principal fuente de cafeína es el grano de café, contiene entre 0.8 y 1.8 % de cafeína, siendo la planta que contiene la mayor concentración de este producto. La concentración de cafeína en los granos de café es variable y depende de algunos factores como: genética de los granos de café, tiempo y forma de preparación. (Lozano et al., 2007)

El té es la segunda fuente más importante de cafeína, el té se obtiene de la hoja desecada del arbusto *Camelia* o *Thea sinensis*. La concentración de cafeína en esta planta está entre 20-73 mg/100 ml, dependiendo del método de extracción. (Lozano et al., 2007)

Otra fuente importante de cafeína es el cacao. En el cacao, el principal compuesto es la teobromina (2,5 %), encontrándose en menor cantidad la cafeína (0,4 %). Por otra parte, en el chocolate el contenido de cafeína oscila entre 5-20 mg/100 g, dependiendo del lugar de origen del cacao. (Lozano et al., 2007)

Plantas como la guaraná, el mate, la cola, yoco contienen entre 2-4 % de cafeína

En la tabla 12, se muestra el contenido de cafeína en sus principales fuentes.

Tabla 12. *Principales fuentes de cafeína*

Fuente	Volumen/Peso	Contenido de cafeína (mg)	Contenido de cafeína promedio (mg)
<b>Café</b>			
Tostado	150 ml	64-124	83
Instantáneo	150 ml	40-108	59
Tostado descafeinado	150 ml	2-5	3
Instantáneo descafeinado	150 ml	2-8	4
Tostado de goteo	150 ml	37-148	84
Todos los cafés (Excepto descafeinado)	150 ml	29-176	-
<b>Té</b>			
Té	150 ml	8-91	27
Bolsa de té	150 ml	28-44	30
Hoja de té	150 ml	30-48	41
Té instantáneo	150 ml	24-31	28
<b>Cacao</b>			
Cacao Sudamericano	150 ml	-	6
Cacao	150 ml	-	42
Tableta de chocolate	28 g	-	20
Chocolate dulce	28 g	1,5-6	3
<b>Bebidas</b>			
Colas	180 ml	15-35	-
Colas descafeinadas	180 ml	0	-
Colas light	180 ml	15-35	-
Colas light descafeinadas	180 ml	0	-

Fuente: (Lozano et al., 2007)

#### 1.3.3.3. Efectos

La cafeína provoca un estímulo en el cerebro que causa una disminución en la acción de la adenosina, un transmisor nervioso que produce calma, generándose también un estado de vitalidad, mayor resistencia física y mental durante varias horas. Provoca también un aumento en la concentración. (Melgarejo, 2011)

Según algunas investigaciones científicas, se ha concluido que no hay una relación directa entre consumir cafeína y ciertas enfermedades como: diabetes, cáncer, enfermedades cardiovasculares, osteoporosis. Así también se ha llegado a comprobar que esta sustancia no genera adicción. (Melgarejo, 2011)



Según estudios de la EUFIC (European Food Information Council), señala que la cafeína en mujeres embarazadas es una dosis normal de 300 mg/día, no genera riesgos, sin embargo, si se supera este límite, se recomienda cautela. En el caso de los niños, el consumo de cafeína debe moderarse, ya que puede generar nerviosismo e irritabilidad. (Melgarejo, 2011)

La cafeína ayuda a la digestión, ya que esta estimula la secreción de saliva y de los jugos gástricos. Según un estudio realizado en 1999, en el “Journal of the American Medical Association”, señala que un grupo de investigadores de Harvard encontró que la cafeína reduce la posibilidad de la formación de cálculos biliares, con dos o tres tazas de café diarias se obtiene un 40% de reducción de ese riesgo. Justamente esa estimulación gástrica es la razón por la cual, las personas que sufren de gastritis o úlceras deben limitar la ingesta de los alimentos que contienen cafeína, al igual que otras sustancias que les ocasionan irritaciones. (Melgarejo, 2011)

#### **1.3.4. Edulcorantes**

Son aditivos alimentarios que dan sabor dulce a los alimentos. Los edulcorantes se clasifican en naturales y artificiales que se diferencian por la cantidad de calorías que aportan. Los edulcorantes artificiales tiene como función principal endulzar los alimentos ya que estos no aportan calorías (Vinza, Elena, & Ramos Sandoval, 2015)

Podemos clasificar a los edulcorantes en dos grupos:

- **Edulcorantes Naturales:** Presentes en frutas, hortalizas, productos lácteos. Su fuente principal es la caña de azúcar y la remolacha. Se clasifican en:

Monosacáridos: Glucosa, fructosa, galactosa

Disacáridos: Sacarosa, maltosa y lactosa

- **Edulcorantes sintéticos:** Este tipo de edulcorantes poseen un poder endulzante superior que los azúcares provenientes de la caña de azúcar y remolacha. Ejemplos. Aspartame, Acesulfame K, sacarina, Stevia, etc. (Vinza et al., 2015)

##### **1.3.4.1. Acesulfame K**

Es un edulcorante artificial. Se lo denomina con las siglas E 950. Su poder edulcorantes es 200 veces más dulce que la sacarosa.

No se metaboliza y se excreta rápidamente, por lo que no tiende a acumularse en el organismo. Según la FDA la Ingesta Diaria Aceptable (IDA) es 15 mg/Kg de peso corporal. (Ibáñez, Torre, & Irigoyen, 2003)



Sus principales usos son en bebidas refrescantes, derivados lácteos, bebidas alcohólicas, helados, postres, mermeladas.

#### **1.3.4.2. Glucosa (Dextrosa)**

Es una aldohexosa, que se encuentra presente en el reino vegetal y en la sangre de los animales en una concentración de aproximadamente 1 g/L. La glucosa en los alimentos se encuentra en forma dextrógira (D-Glucosa). Presenta un sabor dulce y su solubilidad en agua es muy alta. La absorción de esta molécula es muy rápida. (Cervera, Clapés, & Rigolfas, 2001)

Es el componente orgánico más abundante en la naturaleza, libre en frutas y en la miel. Sus principales fuentes son: frutas, hidrolisis del almidón (trigo o maíz)

Tiene un menor poder edulcorante (0,5-0,8), tomando como referencia el de la sacarosa cuyo poder edulcorante es 1. Suministra energía de forma rápida.



## **2. CAPITULO: DISEÑO DEL TRABAJO**

### **2.1. LOCALIZACIÓN DEL TRABAJO**

El presente trabajo de investigación se ejecutó en la planta de lácteos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca.

Los análisis fisicoquímicos, bromatológicos y microbiológicos se los realizó en el laboratorio de aguas y alimentos de la Universidad de Cuenca.

### **2.2. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO**

El presente trabajo de investigación consistió en la formulación de una bebida energética a partir del suero lácteo dulce, el mismo que se obtiene como subproducto en el proceso de elaboración de queso.

Se analizó las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas tanto de la materia prima (suero lácteo) como del producto final.

Los análisis fisicoquímicos, bromatológicos y microbiológicos se realizaron utilizando los equipos y procedimientos establecidos por los laboratorios y las normas ecuatorianas correspondientes. Los análisis fisicoquímicos se basaron en las siguientes normas: INEN 0973 (Determinación del pH), INEN 0013 (Determinación de la acidez titulable), INEN 0012 (Determinación del contenido de grasa), INEN 0016 (Determinación del contenido proteico), reacción de FEHLING (Determinación del contenido de glúcidos totales). Los análisis microbiológicos se realizaron bajo las siguientes normas: INEN 1529-5 (*Aerobios mesófilos*), INEN 1529-8 (*Escherichia coli*), INEN 1529-14 (*Staphylococcus aureus*), INEN 1529-15 (*Salmonella*).

El suero empleado se sometió a un proceso de clarificación para lo cual se usaron 4 tipos de agentes clarificantes: Carbón activado, gelatina sin sabor, albumina (clara de huevo) y carragenato de sodio. Una vez clarificado el suero, se analizaron sus propiedades fisicoquímicas con el objetivo de determinar si hay variaciones en los componentes principales del suero lácteo, y así evaluar el método más conveniente. De esta manera se escogió aquel método de clarificación que produjo menor pérdida en los componentes nutricionales del suero.

Para el proceso de formulación de la bebida se utilizó un diseño experimental, en el cual se variaron 3 factores: Cafeína, sacarosa y glucosa sólida, generando un total de 8 formulaciones, de las cuales seleccionaron 5 para los posteriores análisis. En la bebida se utilizó además sustancias como: Saborizantes naturales (Pulpa de fruta), conservantes, acidulantes y edulcorantes.



Las dosificaciones de los ingredientes usados se basaron en la Norma NTE INEN 2411 (Bebidas energizantes. Requisitos) y en la Norma general para los aditivos alimentarios CODEX STAN 192-2013.

Se evaluó la vida de anaquel de la bebida durante un tiempo de 31 días, donde se analizaron parámetros como: pH, acidez, °Brix, olor y color. (Loaiza, 2011)

Finalmente se hizo un estudio de aceptabilidad de las bebidas formuladas, para lo cual se realizó una evaluación sensorial. Los parámetros para esta evaluación fueron: Acidez, sabor, apariencia (color), aroma, textura. Este estudio se lo llevo a cabo mediante encuestas a estudiantes de la Universidad de Cuenca.

### 2.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

Los materiales, equipos y reactivos utilizados en el presente trabajo, se indican en la tabla 13.

Tabla 13. *Materiales, equipos y reactivos*

<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>	<b>Reactivos/Insumos</b>
Cocina/Marmita	Milkotester	Suero de leche
Bureta	Frigorífico	Carbón activado
Varillas	Potenciómetro	Gelatina sin sabor
Vasos de precipitación	Brixómetro	Albumina/clara de huevo
Pipetas	Balanza	Cafeína
Embudo		Acesulfame K
Termómetro		Glucosa sólida
Lienzo/Coladores		Ácido cítrico
Recipientes de plástico		Sorbato de potasio
Botellas de vidrio		Benzoato de sodio
Papel filtro		Saborizante natural
Ollas de acero		Hidróxido de sodio
		Fenoltaleína
		Sacarosa
		Carragenato de sodio

*Fuente: Autor*

### 2.4. RECEPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

El suero lácteo debe ser almacenado a una temperatura entre 4 y 6 °C. De esta manera se asegura que el suero no sufra cambios durante su almacenamiento o que exista algún crecimiento microbiológico no deseado.

### 2.5. DESCRIPCION DE LAS MATERIAS PRIMAS

#### 2.5.1. Suero Lácteo:

El suero lácteo empleado es producido por las empresas lácteas como subproducto de los procesos de elaboración de queso fresco, el mismo que debe cumplir





con los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos establecidos en la norma NTE INEN 2594:2011

#### **2.5.2. Cafeína:**

La cafeína se encuentra dentro del grupo de los alcaloides. Su fuente principal son los granos de café, plantas de té, chocolate y en menor proporción en la guaraná. Es añadida como ingrediente de bebidas energéticas y bebidas gaseosas. Entre sus principales funciones está: mejorar la concentración, acelerar el metabolismo y mejorar la resistencia física.

#### **2.5.3. Acesulfame K:**

Es considerado como un edulcorante artificial de bajas calorías. Denominado en la industria de los alimentos como E 950. Su única función es proporcionar sabor dulce a los alimentos, es decir no aportan calorías. Su poder edulcorante es 200 veces mayor que la sacarosa (Azúcar común de mesa) y es resiste altas temperaturas.

#### **2.5.4. Glucosa sólida:**

Es uno de los componentes más abundantes de la naturaleza. Se encuentra en forma libre en frutas y miel. Su poder edulcorante es de 0,5-0,8 (Poder edulcorante del azúcar común es igual a 1). Se usa en grandes concentraciones en las bebidas gaseosas.

#### **2.5.5. Pulpa de fruta (mora):**

Se obtuvo directamente a partir de la fruta fresca.

#### **2.5.6. Ácido cítrico:**

Es una sustancia que se usa primordialmente como antioxidante, conservante y regulador de acidez en la industria alimentaria. Además, también cumple la función de saborizantes en bebidas gaseosas y demás alimentos.

#### **2.5.7. Benzoato de sodio:**

Su principal uso es como conservante en alimentos. Es muy eficiente evitando la proliferación de la mayoría de las levaduras, bacterias y hongos. El benzoato de sodio actúa únicamente en condiciones ácidas. Su dosis recomendada de 0,1g/ 100 g de producto terminado.

## 2.6. DESCRIPCIÓN DE LOS PROCESOS DE CLARIFICACIÓN

En todos los procesos de clarificación mencionados a continuación, se analizó las propiedades fisicoquímicas del suero lácteo en el Milkotester antes y después del proceso de clarificación y se lo almacena a 6 °C.

### 2.6.1. Clarificación con carbón activado

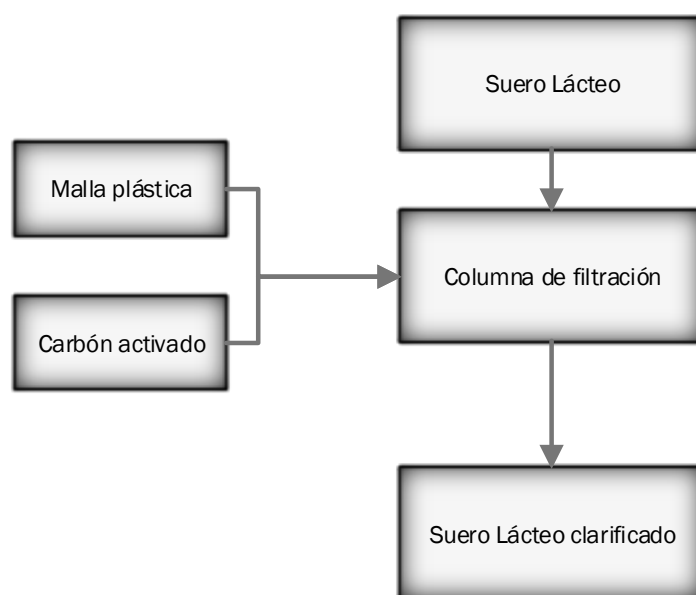
Para este proceso se utilizó una columna metálica como medio de contacto entre el líquido a tratar (suero lácteo) y el carbón activado.

#### 2.6.1.1. Procedimiento:

1. Limpiar la columna metálica de filtración
2. Colocar una malla plástica en la parte inferior de la columna de filtración de tal manera que el material filtrante (carbón activado) no escape.
3. Colocar el carbón activado dentro de la columna.
4. Lavar paulatinamente el carbón activado con agua del grifo. Se realiza el lavado hasta el líquido que sale por la parte inferior de la columna sea totalmente transparente.
5. Pasar el suero lácteo por la parte superior de la columna de filtración.
6. En un envase de plástico o de vidrio, se recoge el suero clarificado.

El proceso de clarificación del suero lácteo con carbón activado se presenta en el diagrama 1.

#### 2.6.1.2. Diagrama del proceso de clarificación con carbón activado



*Diagrama 1. Proceso de clarificación con carbón activado*  
Fuente: Autor



### 2.6.2. Clarificación con Gelatina sin sabor

Es un método muy utilizado en la industria cervecera para eliminar los sólidos extraños que se generan durante su proceso de elaboración, por lo que se adaptó este método en el proceso de clarificación del suero lácteo.

#### 2.6.2.1. Procedimiento:

1. Disolver poco a poco la gelatina industrial sin sabor en 300 ml de suero lácteo caliente (35 °C).
2. Enfriar la solución anterior a la misma temperatura a la que se encuentra el suero lácteo a clarificar. La temperatura debe ser igual o mayor a 25 °C
3. Añadir la solución de gelatina al suero lácteo.
4. Dejar en reposar durante 24 horas (decantación). Los sólidos se precipitarán en el fondo.
5. Extraer la parte líquida (suero clarificado)

La dosis de gelatina sin sabor a usar es 7,5 g por cada 12 litros de solución a tratar (Cajamarca H, 2017).

El diagrama del procedimiento se presenta a continuación:

#### 2.6.2.2. Diagrama del proceso de clarificación con gelatina sin sabor

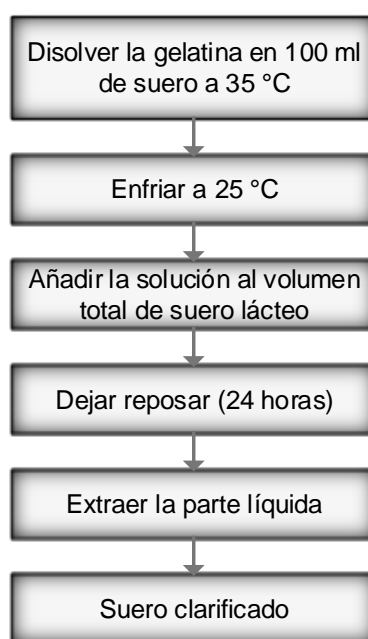


Diagrama 2: Proceso de clarificación con gelatina sin sabor  
Fuente: Autor



### 2.6.3. Clarificación con Albumina/Clara de huevo

La clara de huevo es casi en su totalidad albumina pura. Aproximadamente una clara de huevo contiene 4 g de albumina. Es una sustancia muy utilizada en los procesos de clarificación de vinos, por lo que se adaptó este método al proceso de clarificación del suero lácteo.

#### 2.6.3.1. Procedimiento:

1. Adicionar 1% de sal al volumen total de clara de huevo a utilizar.
2. Batir la clara de huevo hasta el punto de nieve.
3. Verter poco a poco en el volumen de suero lácteo a tratar.
4. Agitar la solución de forma enérgica.
5. Dejar reposar 24 horas (decantación).
6. Filtrar la solución.
7. Recoger el filtrado en un recipiente de plástico (suero clarificado)

Dosis: 2-3 claras de huevo por cada hecto litro de solución a clarificar.

El proceso de clarificación del suero lácteo con albumina se presenta en el diagrama 3.

#### 2.6.3.2. Diagrama del proceso de clarificación con Albumina/Clara de huevo.

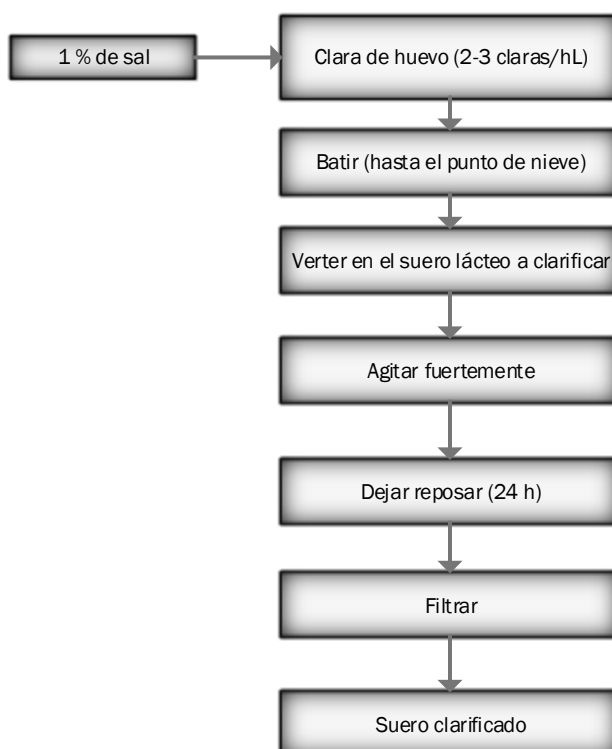


Diagrama 3. Proceso de clarificación con albumina/clara de huevo  
Fuente: Autor



#### 2.6.4. Clarificación con carragenato de sodio

Es un método muy utilizado en la industria de vinos para eliminar los sólidos extraños que se generan durante su proceso de elaboración, por lo que se adaptó este método en el proceso de clarificación del suero lácteo.

##### 2.6.4.1. Procedimiento:

1. Disolver la carragenato de sodio en una pequeña cantidad de suero lácteo caliente (35 °C)
2. Enfriar la solución anterior a la misma temperatura a la que se encuentra el suero lácteo a clarificar. La temperatura debe ser igual o mayor a 25 °C
3. Añadir la solución de carragenato de sodio a todo el volumen de suero lácteo
4. Dejar en reposar durante 24 horas (decantación). Los sólidos se precipitarán en el fondo.
5. Extraer la parte líquida (suero clarificado)
6. La dosis de carragenato de sodio a usar es de 1 g por cada litro de líquido a clarificar.

El diagrama 4 muestra el procedimiento del proceso de clarificación con carragenato de sodio.

##### 2.6.4.2. Diagrama del proceso de clarificación con carragenato de sodio

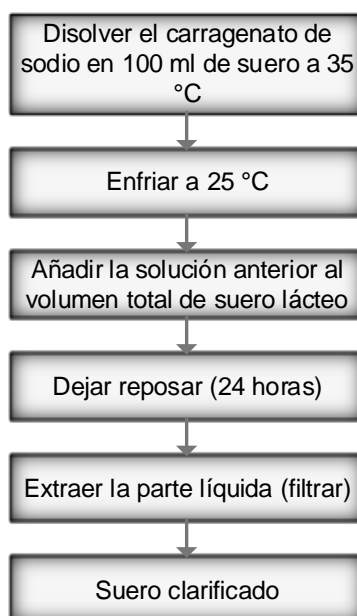


Diagrama 4: Proceso de clarificación con carragenato de sodio  
Fuente: Autor



## 2.7. DESCRIPCION DE LOS PROCESOS DE ELABORACION DE LA BEBIDA

### 2.7.1. Procedimiento

1. **Recepción de la materia prima:** El suero lácteo es recibido y almacenado a temperatura de refrigeración (6 °C).
2. **Filtración:** El suero pasa por un proceso de filtración a través de lienzos para de esta manera eliminar cualquier solido extraño que presente.
3. **Pasteurización del suero lácteo:** El suero se calienta a 70 °C durante 30 minutos.
4. **Análisis fisicoquímico:** Se realizó los análisis físicos químicos del suero lácteo en el laboratorio de lácteos ubicado en el centro Tecnológico de la Universidad de Cuenca. Estas pruebas fueron realizadas en el Milkotester. Este análisis nos permite determinar la calidad del suero lácteo.
  - a. **pH:** Con este análisis identificó qué tipo de suero estamos procesando, puede ser dulce o acido. Se decidió trabajar con suero dulce, es decir con un pH entre 5.8 y 6.6
  - b. **Densidad:** Es un factor que nos sirve para controlar la calidad del suero, nos permite determinar si el suero ha sido alterado. Este parámetro debe estar entre 1.024 +- 0.010 (Loaiza, 2011).
  - c. **Acidez:** El suero debe tener una acidez máxima de 0,16 %, ya que un suero muy acido dificultaría su aprovechamiento.
5. **Clarificación del suero:** Se lo realizo siguientes los procedimientos especificados en el punto 2.6
6. **Análisis bromatológico:** Una vez realizado cada uno del proceso de clarificación especificados en el punto anterior, el suero nuevamente fue analizado en el Milkotester. De esta manera se analizó si el método de clarificación provoca pérdidas del contenido nutricional del suero. Los parámetros que nos da el Milkotester son: Grasa, sólidos no grasos, proteína, lactosa, agua. temperatura, punto de congelación, sales, densidad, pH
7. **Selección del método de clarificación:** Se seleccionó aquel método de clarificación que proporcionó menores perdidas en los componentes nutricionales del suero, así como aquel que nos generó un suero libre de partículas y olores desagradables.
8. **Dosificación (formulación de la bebida energética):** Se agregan los componentes de la bebida energética: cafeína, acesulfame K, glucosa, sacarosa y pulpa



de fruta. Para este paso se realizó un diseño experimental, en el cual se varió las concentraciones de cafeína, sacarosa y glucosa.

**9. Homogenización:** Con el objetivo de obtener un producto uniforme y evitar la separación de los componentes de la bebida se homogeniza la mezcla (agitación constante). Se lo realizó a 40 °C durante 5 minutos.

**10. Pasteurización:** Después que todos los componentes se solubilizaron por completo, se lleva la mezcla a 70 °C durante 30 minutos.

**11. Enfriamiento:** El líquido se enfrió hasta los 40 °C lo más rápido posible.

**12. Adición de conservantes:** Se agregó 0,1 % de benzoato de sodio

**13. Regulación del pH:** Se estabilizó la bebida hasta alcanzar un pH de 4,5. Se utilizó ácido cítrico como regulador de acidez.

**14. Filtración:** Antes de ser envasada la bebida, pasa por un proceso de filtración a través de lienzo con el objetivo de eliminar cualquier partícula extraña formada durante la adición de los ingredientes.

**15. Envasado:** La bebida fue envasada en envases de vidrio. Las botellas fueron previamente esterilizadas antes de proceder al llenado con la bebida.

**16. Evacuación y sellado:** Este proceso se lo realizó a baño maría con el objetivo de eliminar todo el oxígeno que queda en los espacios disponibles de la botella y de esta manera evitar el crecimiento y propagación de microorganismos patógenos. Finalmente se realiza un sellado hermético de la bebida una vez termine el evacuado de esta.

**17. Almacenamiento:** Las bebidas son almacenadas a temperatura ambiente y a temperatura de refrigeración (4 °C), según corresponda.

El procedimiento de la elaboración de la bebida energética se presenta en el diagrama 5.

### 2.7.2. Diagrama de bloque: Elaboración de la bebida energética:

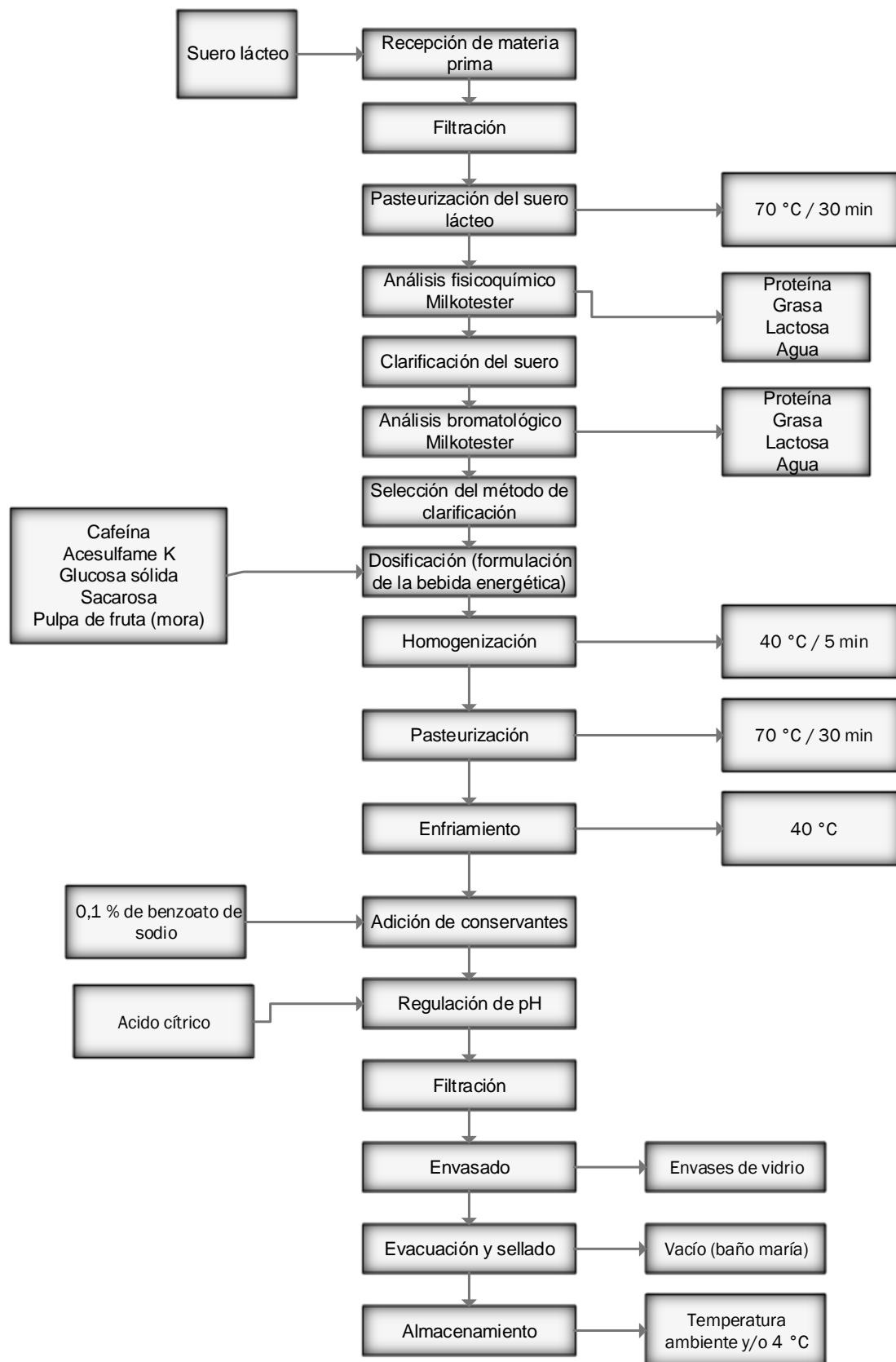


Diagrama 5: Elaboración de la bebida energética  
Fuente: Autor





## 2.8. DISEÑO EXPERIMENTAL: FORMULACION DE LA BEBIDA ENERGETICA

Para la formulación de la bebida se realizó un diseño experimental en donde se varió la concentración de los siguientes ingredientes: Cafeína, sacarosa y glucosa. Adicionalmente a cada formulación se le agrego acesulfame K en una concentración de 600 mg por Kg de producto terminado. Utilizamos este diseño para analizar como la variación de la concentración de los ingredientes mencionados, interfieren en el sabor y aceptación sensorial de la bebida.

En total se generaron 8 formulas, sin embargo, para los análisis sensoriales por parte de los encuestados, previamente se eliminó 4 formulaciones, quedando así únicamente 4 fórmulas. Finalmente se realizó una formulación adicional sin la adición de pulpa de fruta y endulzada únicamente con sacarosa y acesulfame K.

Las concentraciones máximas y mínimas de cafeína usadas en la formulación se obtuvieron de la norma NTE INEN 2411:2015 (Bebidas energéticas. Requisitos).

Las concentraciones de glucosa sólida y sacarosa usadas en el diseño experimental se obtuvieron de la información nutricional de bebidas gaseosas y energéticas que se comercializan en el país.

La concentración de acesulfame K utilizados en la formulación de la bebida se obtuvo de la Norma general para los aditivos alimentarios CODEX STAN 192. La dosis utilizada fue de 600 mg/ Kg de producto terminado

Las formulaciones elaboradas y sus concentraciones se indican en la tabla 14.

Tabla 14. *Diseño experimental, formulación de la bebida energética.*

N° Formulación	Concentración de cafeína [mg/L]	Concentración de glucosa [g/100 g producto]	Concentración de sacarosa [g/100 g producto]	Pulpa de mora [ml pulpa / 10 L suero]
1	250	4	-	1000
2	320	-	8	1000
3	250	4	4	1000
4	320	8	-	1000
5	320	-	8	-

Fuente: Autor



## **2.9. DETERMINACION DE LA VIDA DE ANAQUEL DE ANAQUEL DE LA BEBIDA**

La vida útil de un alimento depende de varios factores: ambientales, humedad, temperatura, composición del alimento. La degradación o descomposición de un alimento se debe principalmente a la acción de enzimas propias del alimento y de microorganismos como: bacterias, hongos, levaduras. La descomposición de un alimento generalmente se ve reflejada en un cambio significativo de algunas de sus propiedades físicas: pH, acidez, °Brix, etc. Por lo que un control preciso de estas propiedades, por un periodo de tiempo determinado, permite conocer el tiempo de vida útil de un alimento.

Se trabajó a dos temperaturas para la determinación del tiempo de vida útil de la bebida

Se realizaron experimentos a temperatura ambiente (20 °C) y a temperatura de refrigeración (4 °C). También se realizó experimentos adicionando conservantes a ciertas formulaciones. El tiempo de análisis de las muestras fue de 31 días

En total se analizó la bebida en 4 condiciones:

- Temperatura ambiente, sin conservantes (A1)
- Temperatura ambiente, con conservantes (A2)
- Temperatura de refrigeración, sin conservantes (A3)
- Temperatura de refrigeración, con conservantes (A4)

Los parámetros para la evaluación del sabor y color se analizaron bajo la siguiente escala:

- 1: No presenta cambios
- 2: Presenta cambios leves
- 3: Presenta cambios significativos.

## **2.10. DESCRIPCION DE LOS ANALISIS FISICO-QUIMICOS REALIZADOS AL SUERO LACTEO**

### **2.10.1. Análisis de calidad del suero lácteo**

Los análisis para determinar la calidad del suero lácteo utilizado en la formulación de la bebida se realizaron en el laboratorio de lácteos del centro Tecnológico de la Universidad de Cuenca. Para este análisis se utilizó el equipo *MILKOTESTER* el cual previamente fue programado para leer parámetros con respecto al suero lácteo. El



equipo dio lectura de los siguientes parámetros: Densidad, % grasa, % sólidos grasos, punto de congelación, % proteína, % lactosa y % de agua.

#### **2.10.1.1. Procedimiento**

- Programar el equipo MILKOTESTER
- Tomar la muestra de suero lácteo a analizar.
- Preparar el blanco (agua destilada)
- Colocar la muestra y el blanco en los recipientes plásticos del equipo.
- Realizar la medición del blanco (2 veces).
- Realizar la medición del suero lácteo (3 veces)

#### **2.10.2. Determinación de la acidez titulable**

Este análisis se lo hizo conforme establece la norma NTE INEN 0013 (Leche. Determinación de la acidez titulable)

Según la norma (NTE INEN 0013) la acidez titulable se define como: “Aquella acidez, expresada convencionalmente como contenido de ácido láctico, y determinada mediante procedimientos normalizados”

##### **2.10.2.1. Fundamento**

Este análisis se basa en la utilización de hidróxido de sodio y de fenolftaleína como solución indicadora. Se le agrega lentamente la solución de hidróxido de sodio a la muestra, que contiene la solución indicadora, hasta el momento en que se genera un cambio de color, lo que se conoce como viraje y marca el final de la titulación. El viraje indica que la solución de hidróxido de sodio adicionada es equivalente a la del ácido presente en la muestra analizada.

##### **2.10.2.2. Materiales y reactivos**

Los materiales y reactivos usados para la determinación de la acidez titulable del suero lácteo se indican en la tabla 15.

Tabla 15. *Materiales y reactivos (Determinación de la acidez titulable).*

<b>Materiales</b>	<b>Reactivos</b>
Matraz Erlenmeyer [100 ml]	Hidróxido de sodio 0,1 N
Matraz aforado [500 ml]	Solución indicadora de fenolftaleína: 0,5 g de fenolftaleína en 100 ml de alcohol etílico
Bureta [25 ml]	Agua destilada exenta de CO <sub>2</sub>
	Agua fría

Fuente: NTE INEN 0013



### 2.10.2.3. Procedimiento

- Lavar y secar cuidadosamente los materiales a usar.
- Agitar levemente la muestra a analizar e inmediatamente transferir al matraz Erlenmeyer.
- Diluir la muestra (aproximadamente al doble del contenido del matraz).
- Agregar 2 ml de la solución de fenolftaleína.
- Agregar lentamente y con agitación la solución de hidróxido de sodio 0,1 N hasta el momento que se produzca una coloración rosa persistente fácilmente perceptible, la coloración desaparece rápidamente.
- Seguir adicionando cuidadosamente la solución de hidróxido de sodio hasta que la coloración rosa persista por lo menos durante 30 segundos.
- Leer en la bureta el volumen de hidróxido de sodio consumido en la titulación.
- Realizar los cálculos usando la siguiente fórmula:

$$\%A = \frac{(VxNxK)_{NaOH} \times m_{eq}}{V_m} \times 100$$

Dónde:

%A= Porcentaje de ácido láctico, P/V

V= Volumen de hidróxido de sodio consumido

N= Normalidad del hidróxido de sodio=0,1

K= Constante de equilibrio del hidróxido de sodio=1

V<sub>m</sub>= Volumen de la muestra

m<sub>eq</sub>= Miliequivalente del ácido láctico=0,09

El proceso de determinación de la acidez titulable en el suero lácteo se presenta en el diagrama 6.

#### 2.10.2.4. Diagrama de flujo: Determinación de la acidez titulable

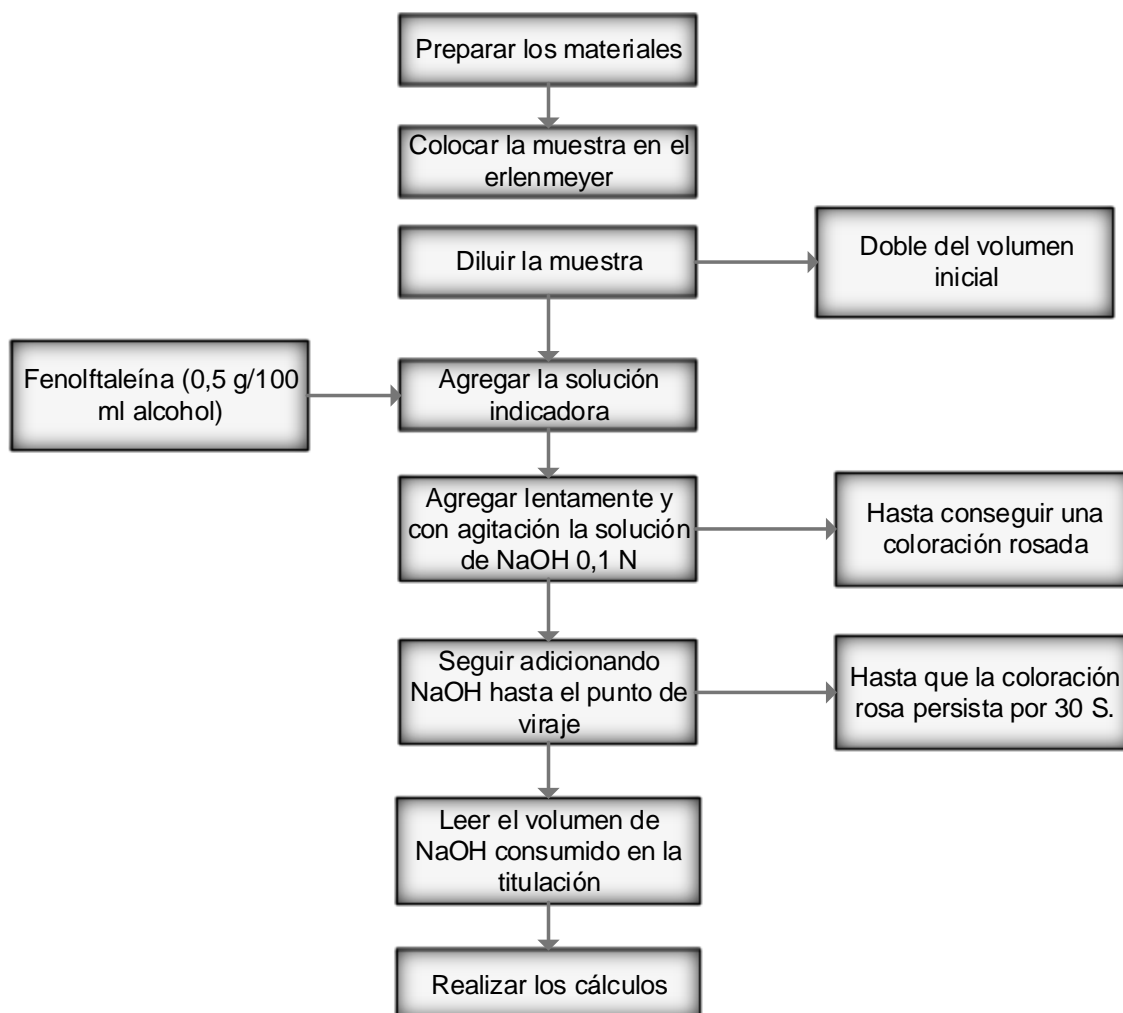


Diagrama 6: Determinación de la acidez titulable

Fuente: Autor

#### 2.10.3. Determinación del pH

El pH de una sustancia representa el grado de acidez (concentración de iones hidronio,  $H^+$ ). La determinación del pH se realizó en base a la norma NTE INEN 0973 que especifica los procedimientos para la determinación del pH en agua potable, utilizando el método potenciómetro, el cual se adapta correctamente para la determinación del pH en el suero lácteo.

##### 2.10.3.1. Fundamento

Para la determinación de este parámetro se utilizó un potenciómetro, su medición se fundamenta en la medida de la diferencia de potencial entre dos electrodos: Un electrodo de referencia (plata) y un electrodo de vidrio que detecta al ion hidronio. Es decir, el aparato mide el cambio eléctrico que se genera por la variación del pH.



### 2.10.3.2. Equipos y reactivos

Los materiales y reactivos usados para la determinación del pH del suero lácteo se indican en la tabla 16.

Tabla 16. *Materiales y reactivos (Determinación del pH en el suero lácteo).*

<b>Materiales y equipos</b>	<b>Reactivos</b>
Piceta	Solución tampón pH4
Vaso de precipitación	Solución tampón pH7
Potenciómetro	Solución tampón pH9
	Agua destilada

Fuente: NTE INEN 0973

### 2.10.3.3. Procedimiento

- Lavar, con agua destilada, los materiales.
- Calibrar el equipo a la temperatura a la cual se encuentra la muestra a analizar.
- Poner la muestra en el vaso de precipitación
- Sumergir los electrodos en la muestra y realizar la medición del pH especificado en el equipo.
- Realizar la medición por duplicado sobre la muestra.

El proceso de determinación del pH en el suero lácteo se muestra en el diagrama 7.

#### 2.10.3.4. Diagrama del flujo: Determinación del pH

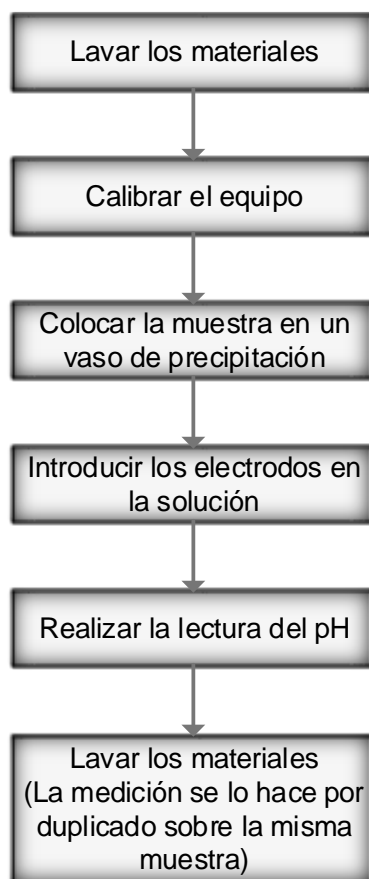


Diagrama 7. *Determinación del pH*  
Fuente: Autor

#### 2.10.4. Análisis de proteína y grasa en el suero lácteo

Estos análisis se realizaron en el equipo MILKOTESTER, programado para determinar estos parámetros en el suero lácteo.

EL fundamento y procedimiento para este análisis están especificados en el punto 2.10.1.1. (Análisis de calidad del suero lácteo).

El proceso de determinación de proteína, grasa, agua y densidad se muestran en el diagrama 8.

#### 2.10.4.1. Diagrama de bloque: Análisis de proteína, grasa % agua y densidad



Diagrama 8: Determinación de grasa, proteína, agua y densidad. Milkotester  
Fuente: Autor

### 2.11. DESCRIPCION DE LOS ANALISIS MICROBIOLOGICOS REALIZADOS AL SUERO LACTEO

Los requisitos microbiológicos, establecidos por la norma NTE INEN 2594, que debe cumplir el suero lácteo se especifican en la Tabla 3.

Los ensayos microbiológicos fueron realizados en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Cuenca por profesionales del área.

#### 2.11.1. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos

Este análisis microbiológico se realizó con el método de ensayo especificado en la norma NTE INEN 1529-5 (Control microbiológico de los alimentos, determinación de microorganismos aerobios mesófilos), el cual establece el método para cuantificar microorganismos aerobios mesófilos es una muestra de alimentos destinado para el consumo humano o animal.

Los microorganismos aerobios mesófilos se desarrollan bajo presencia de oxígeno y a temperaturas entre 20 y 45 °C, siendo sus condiciones óptimas entre 30 y 40 °C (NTE INEN 1529-5)

##### 2.11.1.1. Fundamento:

Este método de ensayo se basa en que un microorganismo presente en una muestra de un alimento nutritivo sólido se multiplicará formando una colonia individual visible. El método se basa en la inoculación del medio nutritivo de cultivo, en el cual se



cuentan los microorganismos formados. La inoculación se realiza a 30 °C durante un tiempo de 72 horas y finalmente se realiza el conteo del número de colonias que se han formado. Se determina la cantidad microorganismos por gramo o centímetro cúbico de alimento. (NTE INEN 1529-5)

El proceso del recuento de *Mesófilos aerobios* se muestra en el diagrama 9.

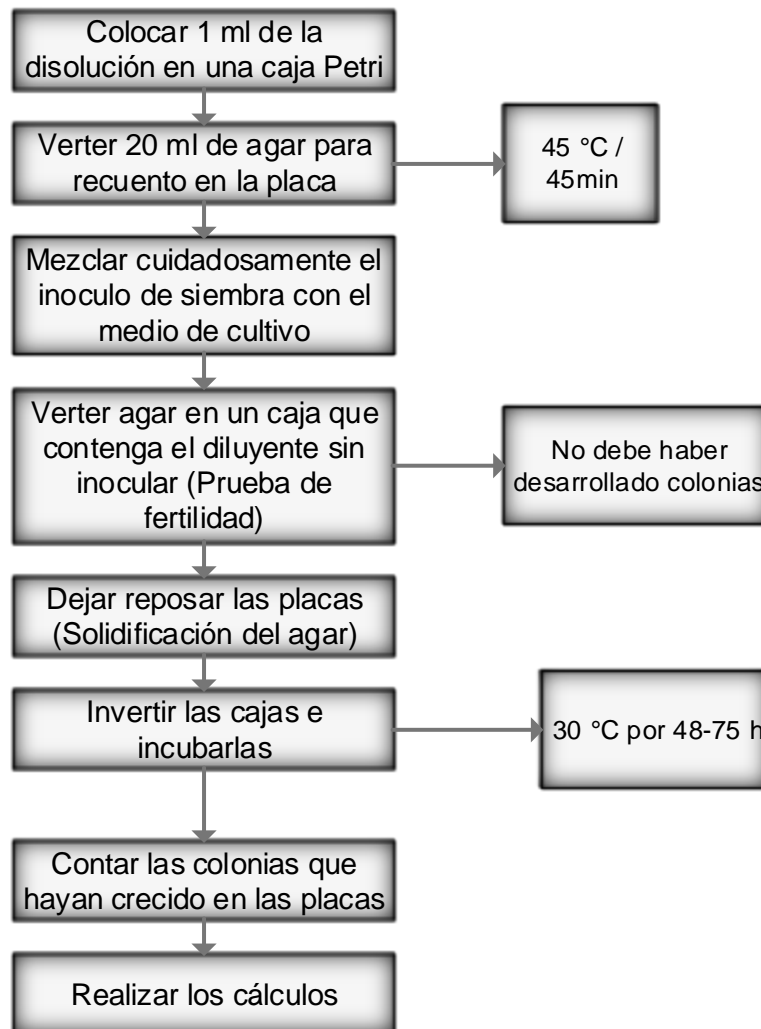


Diagrama 9: Proceso del recuento de Aerobios mesófilos  
Fuente: Autor

### 2.11.2. Recuento de *Escherichia coli*

El método de ensayo para el recuento de microorganismos *Escherichia coli* se lo hizo siguiendo los procedimientos especificados en la norma NTE INEN 1529-8 el cual establece el método para determinar el número más probable de coliformes fecales y las pruebas confirmatorias de *Escherichia coli*

#### 2.11.2.1. Fundamento

El método de ensayo se basa en la fermentación de la lactosa con producción de gas a 44-45,5 °C, método conocido como la prueba de Eijkman. Se complementa



también con la prueba de indol a la misma temperatura. Los ensayos se realizan en caldo brillante-bilis lactosa y caldo triptona partiendo de un inóculo tomando de cada tubo gas positivo del cultivo para coliformes totales e incubados a 45,5 °C. Para la confirmación de *E. coli* y las distintas especies del grupo coliforme fecales, se realiza por medios de las pruebas de indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y citrato sódico. (NTE INEN 1529-8)

El procedimiento del método se especifica en el diagrama 10.

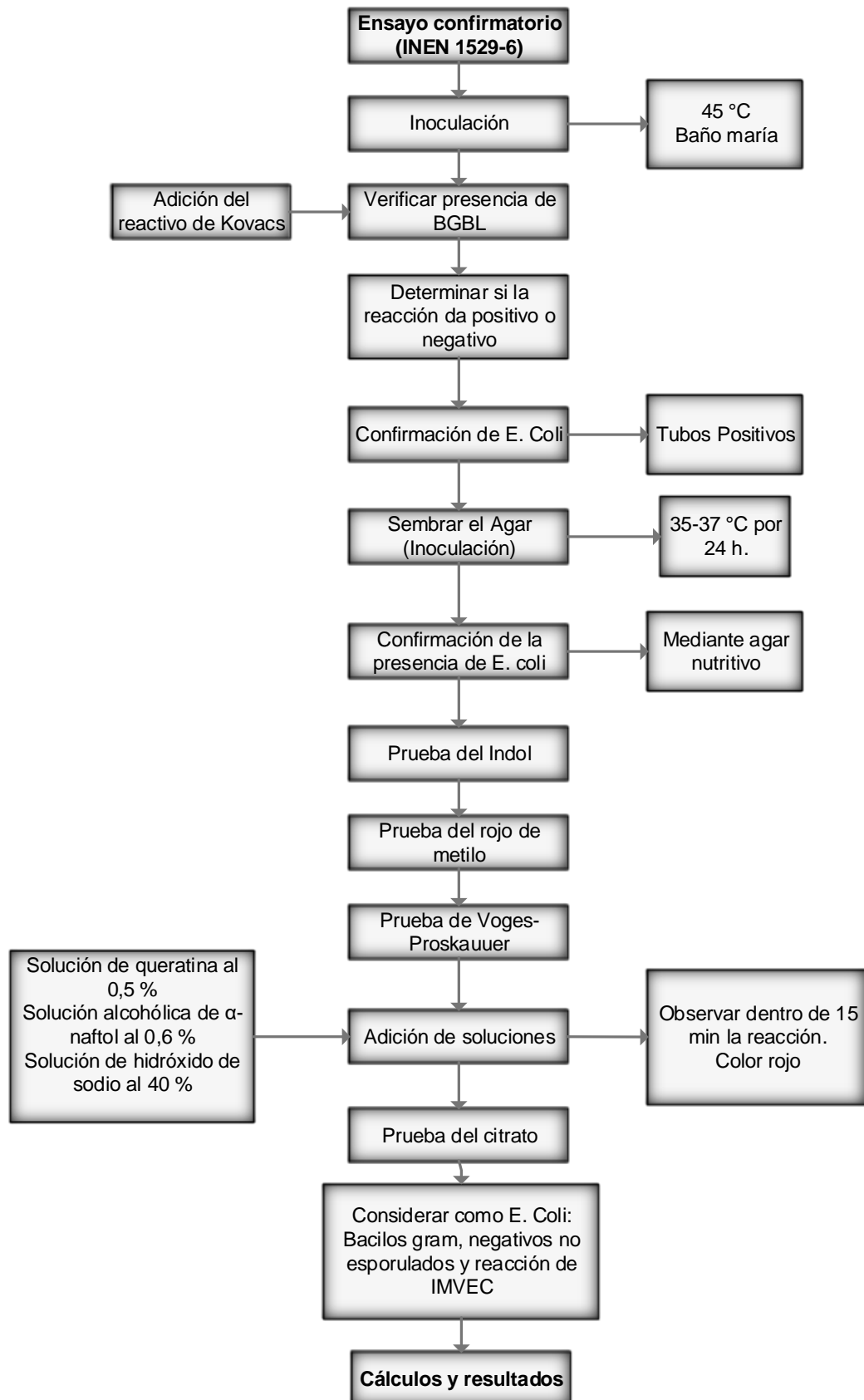


Diagrama 10: Proceso del recuento de E. coli  
Fuente: Autor



### 2.11.3. Recuento de *Staphylococcus aureus*

El método de ensayo para el recuento de *S. aureus* se basó en la norma NTE INEN 1529-14, el cual especifica el método para determinar el número de células viables de *S. aureus* coagulase positivos, presentes en un grama o centímetro cúbico de alimento. El método especificado en la norma va dirigido para alimentos de consumo humano y animal que contengan una alta carga de estafilococos positivos.

#### 2.11.3.1. Fundamento:

Este método se fundamenta en la relación que existe entre la producción de coagulasa por parte del *S. aureus* y su capacidad de utilizar la lipoproteína de la yema del huevo y la capacidad de reducción del telurito a telurio.

### 2.11.4. Detección de salmonella

La detección de microorganismos de *Salmonella* del suero lácteo, se lo hizo siguiendo los procedimientos especificados en la norma NTE INEN 1529-15, que establece el método de ensayo para la determinar Salmonella en alimentos.

#### 2.11.4.1. Fundamento:

Normalmente cuando la *Salmonella* está presente en los alimentos en pequeños números, generalmente están acompañadas por un gran número de otros microorganismos de Enterobacteriaceae, por lo que el método se da en las siguientes etapas:

- Pre-enriquecimiento: Se cultiva la muestra a 37 °C en medios exentos de agentes químicos selectivos (con el objetivo de revitalizar salmonellas lesionadas)
- Enriquecimiento selectivo: Subcultivo (37 °C y entre 42 y 43 °C)
- Siembra en placa de medios selectivos sólidos: Se inocula los cultivos enriquecidos selectivos en la superficie de agares selectivos y diferenciales, de esta manera se visualiza colonias que por ciertas características pueden ser seleccionadas como Salmonella presuntiva.
- Identificación: La Salmonella presuntiva es analizada mediante sus propiedades bioquímicas y serológicas para de esta manera identificar las de la clase Salmonella. (NTE INEN 1529-15)

A continuación, en el diagrama 11, se muestra el desarrollo del proceso de detección de salmonella. El procedimiento de este análisis se especifica más detalladamente en la norma NTE INEN 1529-15



Diagrama 11: Detección de Salmonella

Fuente: Autor

## 2.12. DESCRIPCIÓN DE LOS ANALISIS FISICO QUÍMICOS DE LA BEBIDA ENERGÉTICA

### 2.12.1. Determinación del pH

El pH es un coeficiente o un valor que determina el grado de acidez o alcalinidad de una solución acuosa. Indica las concentraciones de iones hidronio presentes en una sustancia. La determinación del pH de la bebida se lo hizo siguiendo las normas y procedimientos especificados en la norma NTE INEN 0973.

#### 2.12.1.1. Fundamento

La medición del pH se fundamenta en la diferencia de potencial que existe entre dos electrodos, introducidos en una solución: Un ánodo de referencia y un electrodo de vidrio que detecta al ion hidrogeno. La medición se la hace mediante un potenciómetro.



### 2.12.1.2. Equipos y reactivos

Los materiales y reactivos usados para la determinación del pH de la bebida energética se indican en la tabla 17.

Tabla 17. *Materiales y reactivos (Determinación del pH, bebida energética).*

Equipos	Reactivos
Potenciómetro	Agua destilada
Piceta	Solución tampón de pH4
Vasos de precipitación	Solución tampón de pH7
	Solución tampón de pH9

Fuente: NTE INEN 0973

### 2.12.1.3. Procedimiento:

- La determinación se la hace por duplicado sobre la misma muestra
- Limpiar los electrodos usando agua destilada.
- Calibrar el equipo a la temperatura de la muestra.
- Colocar la muestra en un vaso de precipitación.
- Introducir los electrodos en la solución y efectuar la medición.

### 2.12.1.4. Diagrama: Determinación del PH

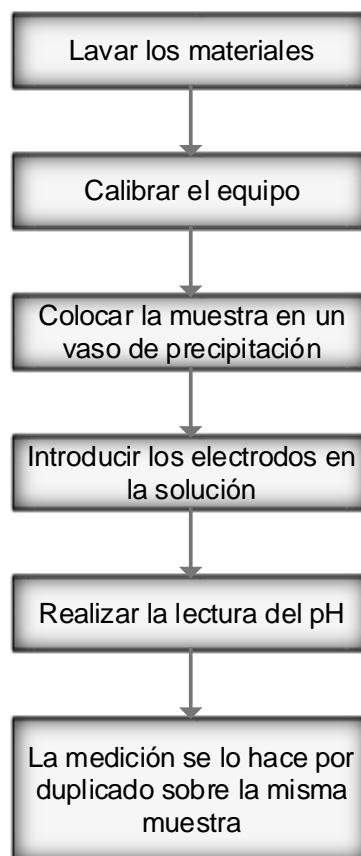


Diagrama 12. Determinación del pH (Bebida energética)

Fuente: Autor



### 2.12.2. Determinación del % de grasa

Para la determinación de grasa en la bebida energética se utilizó los métodos y procedimientos especificados en la norma NTE INEN 0012, el cual establece el método de Gerber para la determinación del contenido graso.

#### 2.12.2.1. Fundamento:

El método se fundamenta en la separación de la grasa contenida en el alimento sometiendo la muestra a un ataque ácido y posteriormente centrifugando la misma. La determinación del % de grasa se lo hace mediante lectura directa en un butirómetro estandarizado. (NTE INEN 0012)

#### 2.12.2.2. Materiales y reactivos

Los materiales y reactivos usados para la determinación del % de grasa en la bebida energética se indican en la tabla 18 y 19 respectivamente.

Tabla 18. *Materiales (Determinación del % de grasa en la bebida energética).*

<b>Materiales</b>
Pipeta aforada de 10 cm <sup>3</sup>
Pipeta aforada de 1 cm <sup>3</sup>
Pipeta aforada de 10,94 cm <sup>3</sup>
Butirómetro Gerber
Centrífuga. (1100 r/min)
Baño maría. (65 °C)
Fuente: NTE INEN 0012

Tabla 19. *Reactivos (Determinación del % de grasa en la bebida energética).*

<b>Reactivos</b>	<b>Especificaciones</b>
Ácido sulfúrico concentrado	Densidad 1,815 g/cm <sup>3</sup> (20 °C)
Alcohol amílico	Densidad de 0,811 g/cm <sup>3</sup> (20 °C)
Agua destilada	

Fuente: NTE INEN 0012

#### 2.12.2.3. Procedimiento:

- Agitar y mezclar la muestra hasta que esté homogénea. Tener cuidado que no haya separación de grasa por efecto de la agitación. (la muestra debe estar a 20 °C).
- Añadir exactamente 10 ml de ácido sulfúrico en el butirómetro de Gerber. No se debe mojar con ácido sulfúrico el cuello del butirómetro.
- Invertir la botella que contiene la muestra preparada (3-4 veces) y pipetear 10,94 ml (exactamente medidos) de la bebida.
- Verter el contenido de la pipeta en el butirómetro. Esto se lo hace sosteniendo la punta de la pipeta en el borde inferior de butirómetro. Dejar transcurrir 3



segundos para que descargue totalmente el contenido de la muestra (hasta la última gota)

- Añadir 1 ml de alcohol amílico en el butirómetro. No se debe tocar el cuello del butirómetro con el alcohol. EL alcohol amílico se añade siempre después de la leche.
- Tapar herméticamente el butirómetro y agitar en una vitrina de protección. Se invierte 2-3 veces el butirómetro durante la operación hasta que no aparezcan partículas blancas.
- Proceder a centrifugar el butirómetro con su tapa colocada hacia afuera. Equilibrar la centrifuga con butirómetros de peso similar. La centrifugación se lo realiza durante 4-5 minutos a la velocidad máxima programada en el equipo ( $1100 \pm 100$  r/min)
- Retirar el butirómetro de la centrifuga y colocarlo en el baño de agua a  $65\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante un tiempo mínimo de 4 min y máximo de 10 min. El butirómetro debe ser colocado con la tapa hacia arriba.
- Proceder a la lectura del contenido de grasa. La lectura debe hacerse de forma vertical y el nivel de lectura a la misma altura de los ojos.

En el diagrama 13, se puede observar el desarrollo del proceso de determinación del contenido graso en la bebida energética.



**2.12.2.4. Diagrama: Proceso de determinación del contenido graso en la bebida energética.**

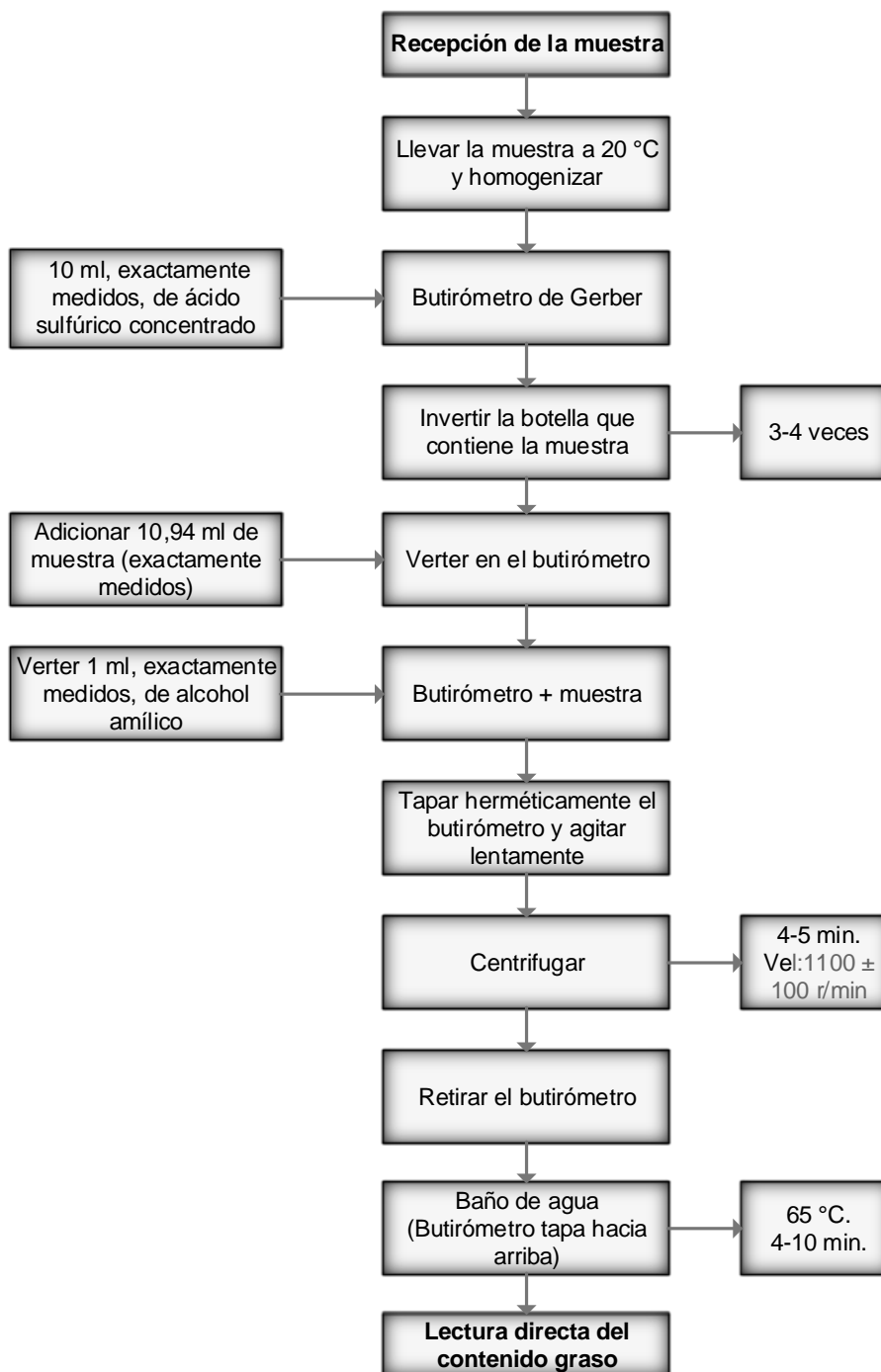


Diagrama 13. Proceso de determinación del contenido graso en la bebida energética  
Fuente: Autor

**2.12.3. Determinación del % de proteínas**

El análisis para la determinación del % de proteínas en la bebida energética se basó en la norma NTE INEN 0016 el cual establece el método para la determinación del contenido proteico en la leche, por lo que se aplicó para la bebida. La norma establece el método de Kjeldahl para este análisis.



El contenido de proteína en una bebida es la cantidad de nitrógeno total de la bebida expresada convencionalmente como contenido de proteínas, y determinada mediante procedimientos normalizados (NTE INEN 0016).

### 2.12.3.1. *Fundamento*

El método Kjeldahl consta básicamente de 3 etapas: Digestión, destilación y titulación.

Este método consiste en someter la muestra a una digestión ácida usando ácido sulfúrico, de esta manera se digieren las proteínas y otros componentes orgánicos del alimento. El nitrógeno orgánico total se transforma en sulfato de amonio durante la digestión. Luego la mezcla se neutraliza con una base y, mediante destilación por arrastre de vapor, se separa el amoníaco de la muestra. El destilado es recogido en una solución de ácido bórico o ácido sulfúrico y finalmente los aniones de borato formados se titulan con ácido clorhídrico para determinar el contenido de nitrógeno en la muestra. (NTE INEN 0016)

### 2.12.3.2. *Materiales, equipos y reactivos*

Los materiales y reactivos usados para la determinación del % de proteínas en la bebida energética se indican en la tabla 20.

Tabla 20. *Materiales, equipos y reactivos (Determinación del contenido proteico en la bebida fermentada).*

Materiales y equipo	Reactivos	
	Reactivo	Especificaciones
Aparto de Kjeldahl	Ácido sulfúrico concentrado	Densidad de 1,84 g/ cm <sup>3</sup>
Matraz de Kjeldahl de 50 cm <sup>3</sup>	Solución 0,1 N de ácido sulfúrico	
Matraz Erlenmeyer de 500 cm <sup>3</sup>	Solución concentrada de hidróxido de sodio	Densidad=1,36 g/ cm <sup>3</sup>
Bureta de 50 cm <sup>3</sup>	Solución 0,1 N de hidróxido de sodio	
Balanza analítica	Solución de sulfuro alcalino o solución de tiosulfato de sodio	40 g de sulfuro de potasio en 1000 cm <sup>3</sup> de agua destilada. 80 g de tiosulfato de sodio pentahidratado en 100 cm <sup>3</sup> de agua destilada.
	Sulfato de potasio o sulfato de sodio anhidro	Exento de nitrógeno
	Oxido de mercurio	



Solución alcohólica  
de rojo de metilo

Disolver 1 g de rojo de  
metilo en 200 cm<sup>3</sup> de  
alcohol etílico 95 % V/V

Fuente: NTE INEN 0016

### 2.12.3.3. Procedimiento

- Se debe realizar el análisis por duplicado
- Pesar 5 g de muestra.
- Trasladar la muestra al matraz de Kjeldahl y añadir el catalizador (0,7 g de óxido mercúrico y 15 g de sulfato de potasio en polvo).
- Añadir 25 cm<sup>3</sup> ácido sulfúrico concentrado.
- Agitar el matraz y colocarlo de forma inclinada en el aparato de Kjeldahl.
- Calentar lentamente hasta que se genera espuma y hasta que la solución hierva uniformemente y adquiere un aspecto limpio. Realizar el calentamiento por 30 minutos y dejar enfriar.
- Agregar 200 cm<sup>3</sup> de agua destilada y enfriar la mezcla hasta 25 °C.
- Agregar 25 cm<sup>3</sup> de la solución de sulfuro alcalino (o tiosulfato de sodio), agitar la mezcla.
- Inclinar el matraz y verter por sus paredes cuidadosamente para que se formen dos capas, 50 cm<sup>3</sup> de la solución concentrada de hidróxido de sodio
- Conectar el matraz Kjeldahl al condensador inmediatamente, mediante la ampolla de destilación. El extremo de salida del condensador debe estar sumergido en 50 cm<sup>3</sup> de la solución 0,1 N de ácido sulfúrico contenida en el matraz Erlenmeyer el cual contiene unas gotas de la solución alcohólica de rojo de metilo.
- Agitar el matraz Kjeldahl y calentarlo.
- Destilar hasta que todo el amoníaco haya pasado a la solución contenida en el matraz Erlenmeyer (hasta unos 150 cm<sup>3</sup> de destilado).
- Titula con la solución de hidróxido de sodio 0,1 N el exceso de ácido contenido en el matraz Erlenmeyer.
- Realizar el mismo procedimiento con el blanco (con todos los reactivos excepto con la muestra).
- Realizar los cálculos.

$$P = (1,40)(6,38) \frac{(V_1 \times N_1 - V_2 \times N_2) - (V_3 \times N_1 - V_4 \times N_2)}{m}$$

Donde:

P= Contenido de proteínas en la bebida (% en masa)



V1= Volumen de la solución de ácido sulfúrico empleado para recoger la muestra, en  $\text{cm}^3$

N1= Normalidad de la solución de ácido sulfúrico

V2= Volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación, en  $\text{cm}^3$

N2= Normalidad de la solución de hidróxido de sodio.

V3= Volumen de la solución de ácido sulfúrico empleado para recoger el destilado del ensayo en blanco, en  $\text{cm}^3$ .

V4= Volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación del ensayo en blanco, en  $\text{cm}^3$ .

m= Masa de la muestra, en g.

En el diagrama 14, se puede ver proceso de determinación del contenido proteico en la bebida energética.

#### 2.12.3.4. Diagrama: Determinación del contenido proteico.

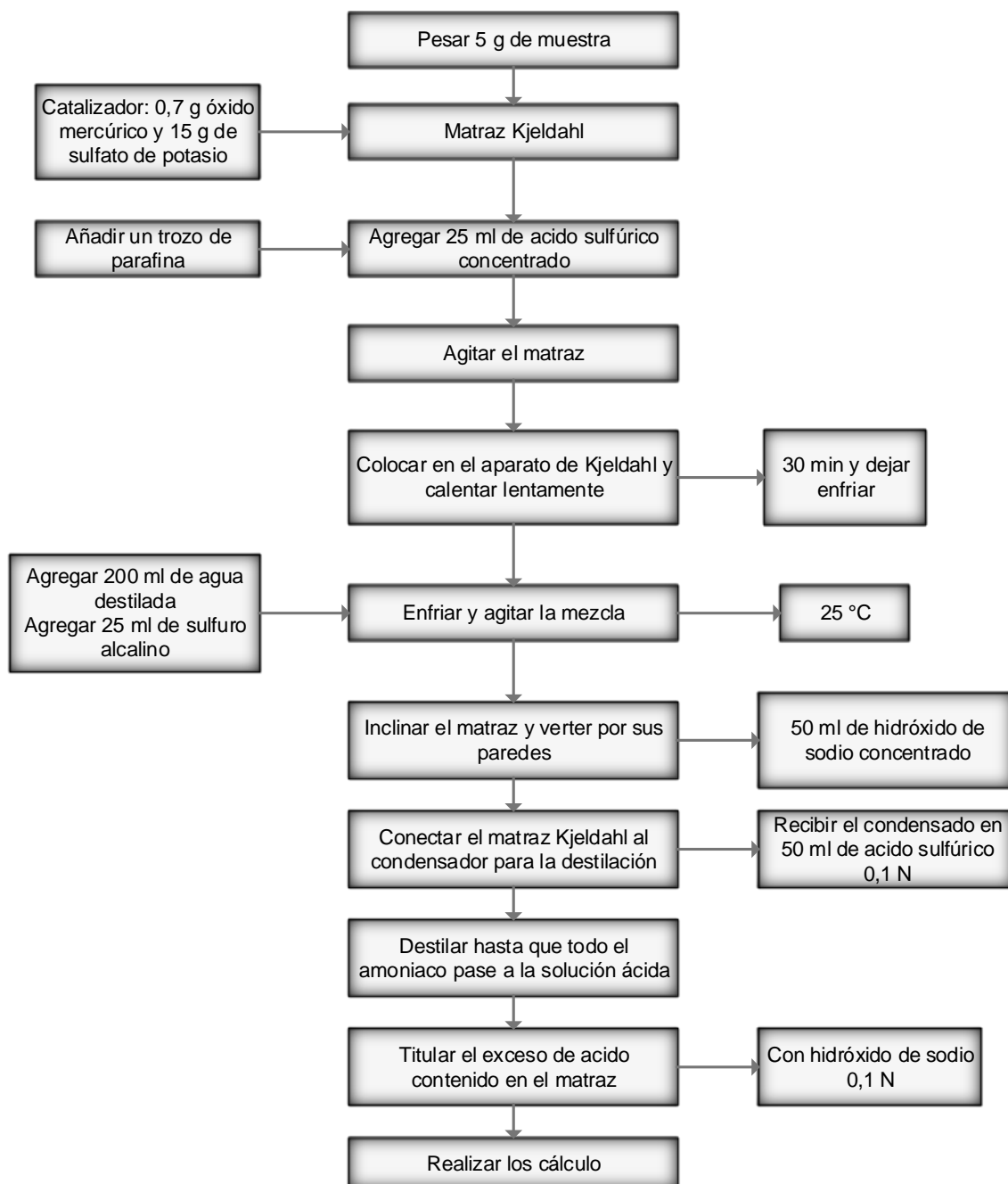


Diagrama 14: Proceso de determinación del contenido proteico en la bebida energética  
Fuente: Autor

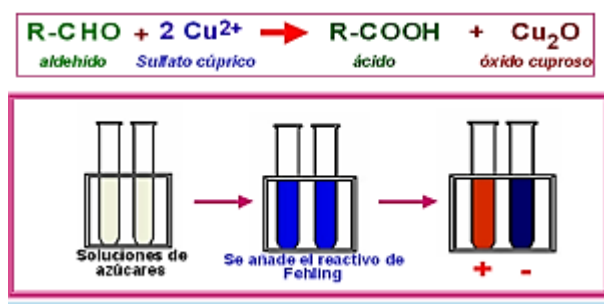
#### 2.12.4. Determinación del % de glúcidos

La determinación de % de glúcidos está fundamentada por la reacción de FEHLING que se utiliza para la detección de sustancias reductoras como los azúcares reductores

##### 2.12.4.1. Fundamento

Este método se fundamenta en la acción reductora del grupo aldehído presentes en los azúcares reductores. Se produce una reacción redox, en donde el grupo aldehído

(reductor) es oxidado a ácido por el  $\text{Cu}^{2+}$ , mientras que por otra parte el  $\text{Cu}^{2+}$  se reduce a  $\text{Cu}^+$  formando un precipitado de óxido cuproso de color rojo.



Reacción de Fehling

Fuente: Recuperado de:

<https://sites.google.com/site/laboratoriosbioquimica/bioquimica-i/carbohidratos/reaccion-de-fehling>

#### 2.12.4.2. Procedimiento:

##### **Valoración del licor de Fehling**

- Se parte de una solución patrón de glucosa 0,5 % P/V.
- En un Erlenmeyer colocar 5 ml de Fehling A Y 5 ml de Fehling B y agregar 30 ml de agua destilada.
- En una bureta colocar la solución de glucosa y titular.
- Para realizar esta determinación la solución del licor de Fehling debe estar en ebullición hasta que se torne un precipitado color rojo ladrillo,
- La solución cambia de color azul a incoloro.
- Realizar los cálculos.

##### **Determinación de carbohidratos reductores**

- Medir o pesar 20 ml de muestra e introducir en un balón de aforo de 100 ml y añadir 60 ml de agua destilada.
- Añadir de 2-3 gotas de ácido acético al 20% hasta producir el corte de la leche

*Nota: Si con las primeras gotas no corta, calentar levemente y continuar añadiendo*

- Dejas enfriar y aforar a 100 ml con agua destilada.
- Homogenizar y filtrar. El Filtrado colocar en la bureta.
- En un Erlenmeyer colocar 5ml del reactivo de Fehling A, 5ml del reactivo de Fehling B y 30 ml de agua destilada.
- El matraz que contiene el licor de Fehling debe ser calentado.
- La titulación con el contenido de la bureta debe realizarse siempre en caliente

- Se titula hasta desaparición del color azul y forme un precipitado rojizo de  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ .
- Realizar los cálculos

El procedimiento del método se especifica en el diagrama 15.

#### 2.12.4.3. Diagrama: Proceso de determinación del % de glúcidos

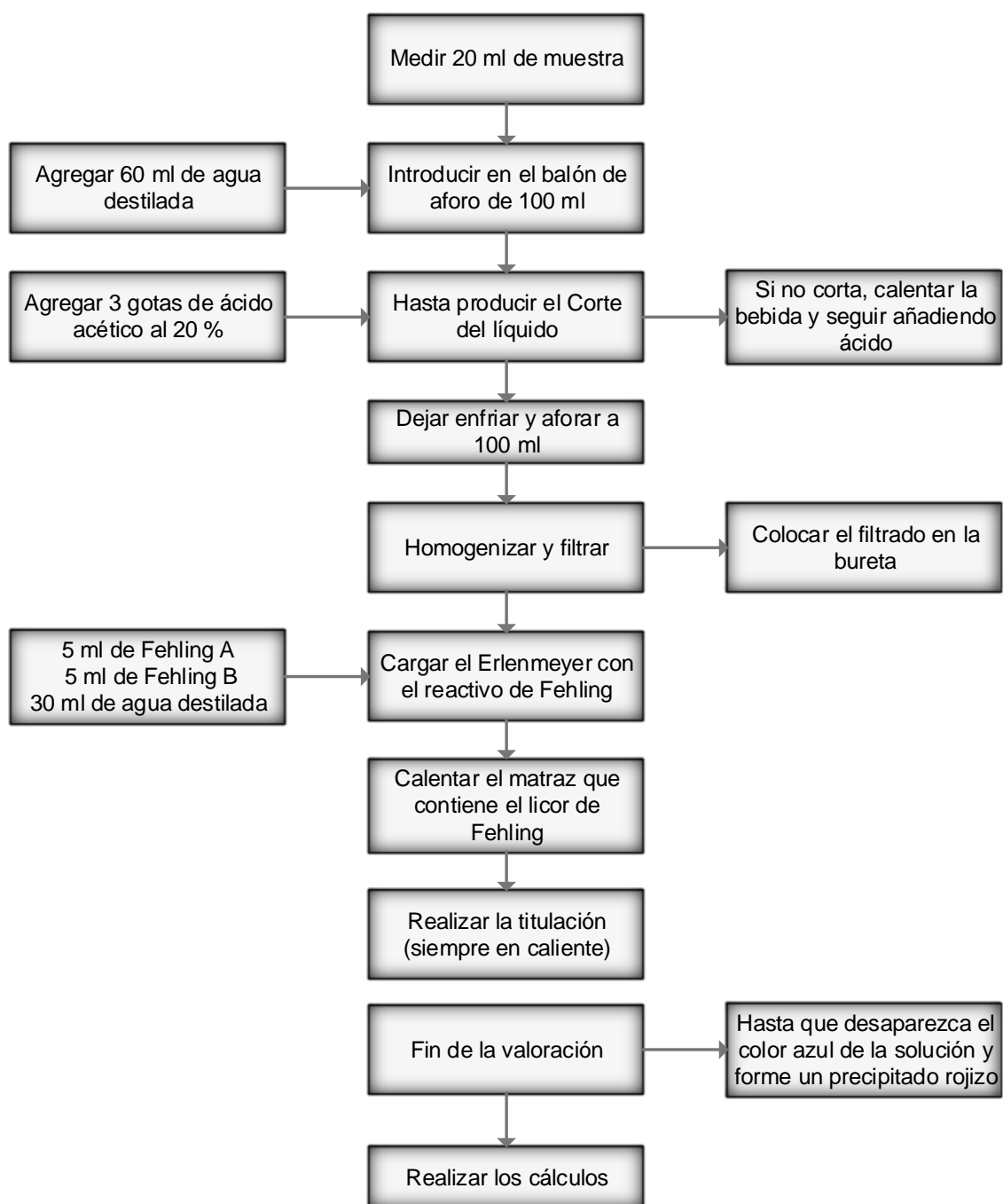


Diagrama 15: Determinación del % de glúcidos en la bebida energética

Fuente: Autor



### 2.13. DESCRIPCIÓN DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS REALIZADOS AL PRODUCTO FINAL (BEBIDA ENERGÉTICA)

Los métodos y procedimientos utilizados para los análisis microbiológicos son los mismos utilizados para el suero lácteo, mismos que se encuentran especificados en el punto 2.11

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 3.1. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL SUERO DE LÁCTEO

#### 3.1.1. Acidez del suero de leche

Los datos obtenidos de la titulación para la determinación de la acidez del suero lácteo se presentan en la tabla 21.

Tabla 21. *Datos. Determinación de la acidez titulable del suero lácteo.*

Volumen de la muestra	20 ml
Volumen de NaOH consumido	2,8 ml
Normalidad NaOH	0,5 N
Miliequivalentes del NaOH	0,09

Fuente: Autor

$$\% \frac{P}{V} \text{Acido láctico} = A = \frac{(V \times N \times K)_{NaOH} \times m_{eq}}{V_m} \times 100$$

$$\% \frac{P}{V} \text{Acido láctico} = A = \frac{(20 \times 0,5 \times 1)_{NaOH} \times 0,09}{20} \times 100$$

$$\% \frac{P}{V} \text{Acido láctico} = A = 0,126$$

#### 3.1.2. pH del suero de leche

pH= 6,2

#### 3.1.3. Resultado de los análisis del % de grasa, % de proteína, densidad, agua, del suero lácteo.

Estos parámetros se analizaron en el Milkotester del laboratorio de lácteos de la Universidad de Cuenca. Los resultados obtenidos se expresan en la tabla 22.

Tabla 22. *Resultado de los análisis físicoquímicos del suero lácteo.*

Parámetro	Leche de vaca	Suero Lácteo	Requisitos INEN 2594	
			Min	Max
Grasa, %	4,00	0	---	0,3
Solidos no grasos (SNG), %	8,65	5,98	---	---





<b>Proteína, %</b>	3,10	2,17	0,8	---
<b>Lactosa, %</b>	4,60	3,27	---	5
<b>Agua, %</b>	0	28,43	---	---
<b>Sales, %</b>	0,70	0,43	---	---
<b>Densidad, g/cm<sup>3</sup></b>	1,0245	1,044	---	---
<b>pH</b>	6,4	6,20	6,8	6,4

Fuente: Autor

Los parámetros fisicoquímicos analizados cumplen con los requisitos establecidos en la norma INEN 2594:2011 (Suero de leche líquido. Requisitos)

Los resultados de la tabla 23, muestran que en el suero lácteo contiene aproximadamente el 70 % del total de proteínas existentes en la leche de vaca.

### 3.1.4. Resultado de los análisis microbiológicos

Los análisis fueron realizados en el laboratorio de análisis de agua y alimentos de la Universidad de Cuenca. Los resultados obtenidos se expresan en la tabla 23.

Tabla 23. *Análisis microbiológico del suero lácteo.*

<b>Muestra</b>	<b>Parámetro</b>	<b>Método</b>	<b>Unidad</b>	<b>Resultado</b>	<b>Requisito límite máximo</b>
<b>Suero lácteo pasteurizado</b>	Coliformes totales	NTE INEN 1529-6	NPM/ml	<3	<10
	Coliformes fecales	NTE INEN 1529-6	NPM/ml	<3	<10
	Salmonella	NTE INEN ISO 6579		Ausencia/25 gramos	Ausencia
	Aerobios mesófilos	NTE INEN 1529-5	UFC/g	3 x 10 <sup>2</sup>	30 000

Fuente: Laboratorio de aguas y alimentos de la Universidad de Cuenca

Los resultados muestran que el suero lácteo pasteurizado cumple con los requisitos microbiológicos establecidos en la norma NTE INEN 2594:2011 (Suero de leche líquido. Requisitos)

## 3.2. RESULTADO DE LOS PROCESOS DE CLARIFICACIÓN DEL SUERO LÁCTEO

### 3.2.1. Clarificación con gelatina industrial

En la tabla 24 se muestran los análisis fisicoquímicos del suero lácteo clarificado utilizando gelatina industrial como agente clarificante. Los análisis se realizaron en el Milkotester del laboratorio de lácteos de la Universidad de Cuenca.



Tabla 24. *Resultados de los análisis fisicoquímicos del suero lácteo clarificado con gelatina industrial.*

Parámetro	Suero Lácteo sin clarificar	Suero clarificado
Grasa, %	0	0
Sólidos no grasos (SNG), %	5,98	6,22
Proteína, %	2,17	2,23
Lactosa, %	3,27	3,40
Agua, %	28,43	25,77
Sales, %	0,43	0,50
pH	6,20	6,05

Fuente: Autor

Los resultados de la tabla 24 indican que el suero lácteo clarificado con gelatina industrial no tiene pérdidas de proteínas con respecto a la concentración inicial de proteínas del suero sin clarificar.

### 3.2.2. Clarificación con albumina (clara de huevo)

Los análisis fisicoquímicos del suero lácteo clarificado utilizando clara de huevo como agente clarificante, se expresan en la tabla 25. Los análisis se realizaron en el Milkotester del laboratorio de lácteos de la Universidad de Cuenca.

Tabla 25. *Resultados de los análisis fisicoquímicos del suero lácteo clarificado con albumina (clara de huevo).*

Parámetro	Suero Lácteo sin clarificar	Suero clarificado
Grasa, %	0	0
Sólidos no grasos (SNG), %	5,98	6,35
Proteína, %	2,17	2,30
Lactosa, %	3,27	3,43
Agua, %	28,43	24,30
Sales, %	0,43	0,50
pH	6,20	6,35

Fuente: Autor

Los análisis demuestran que el suero lácteo clarificado con albumina tampoco presenta pérdidas de proteínas.



### 3.2.3. Clarificación con carbón activado

En la tabla 26 se muestra los análisis fisicoquímicos del suero lácteo clarificado utilizando carbón activado como agente clarificante. Los análisis se realizaron en el Milkotester del laboratorio de lácteos de la Universidad de Cuenca.

Tabla 26. *Resultados de los análisis fisicoquímicos del suero lácteo clarificado con carbón activado.*

Parámetro	Suero Lácteo Sin clarificar	Suero clarificado
Grasa, %	0	0
Sólidos no grasos (SNG), %	5,98	4,74
Proteína, %	2,17	1,80
Lactosa, %	3,27	2,73
Agua, %	28,43	39,40
Sales, %	0,43	0,40
pH	6,20	6,20

Fuente: Autor

Los resultados de los análisis muestran que el suero lácteo clarificado con carbón activado presenta una pérdida de proteínas de aproximadamente 17 %.

### 3.2.4. Clarificación con carragenato de sodio

Los resultados, del proceso de clarificación con carragenato de sodio, realizados en el Milkotester, se indican en la tabla 27.

Tabla 27. *Resultados de los análisis fisicoquímicos del suero lácteo clarificado con carragenato de sodio.*

Parámetro	Suero Lácteo sin clarificar	Suero clarificado
Grasa, %	0	0,00
Sólidos no grasos (SNG), %	5,61	5,62
Proteína, %	2,00	2,00
Lactosa, %	3,07	3,07
Agua, %	32,77	32,97
Sales, %	0,40	0,40
pH	5,86	5,62

Fuente: Autor

Los resultados de los análisis muestran que el suero clarificado con carragenato de sodio no sufre pérdidas de los nutrientes después del proceso.

### 3.2.5. Selección del método de clarificación

El suero lácteo clarificado con gelatina industrial y con albumina (clara de huevo) dio un resultado similar. El líquido clarificado presentó un color amarillo-verdusco y los análisis fisicoquímicos muestran que en ninguno de los dos casos existe pérdidas de proteínas.

El suero clarificado con carbón activado dio un líquido mucho más transparente que en los procesos anteriores, sin embargo, el suero presenta una pérdida de proteínas de aproximadamente 17 %.

Finalmente, el suero lácteo clarificado con carragenato de sodio, dio como resultado un líquido más transparente que el clarificado con gelatina industrial y albumina, pero no tan transparente que el clarificado con carbón activado. En este proceso de clarificación tampoco existen pérdidas de proteínas.

Si bien el carbón activado resultó ser el mejor clarificante, en cuanto a la obtención de un líquido más transparente, este proceso presenta pérdidas significativas en la concentración de proteínas, razón por la cual se seleccionó la carragenato de sodio como agente clarificante ideal para el suero lácteo.

En las siguientes imágenes, se puede observar las diferencias entre en suero lácteo sin clarificar, y el suero lácteo clarificado por los distintos métodos.



*Imagen 1: Suero lácteo sin clarificar*



Imagen 2: Suero lácteo clarificado con gelatina sin sabor



Imagen 3: Suero lácteo clarificado con albumina

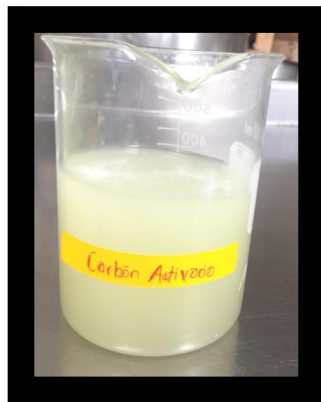


Imagen 4: Suero lácteo clarificado con carbón activado



Imagen 5: Suero lácteo clarificado con carragenato de sodio

### 3.3. RESULTADO DE LOS ANALISIS BROMATOLOGICOS DEL PRODUCTO FINAL

Los análisis bromatológicos del producto final fueron realizados en el laboratorio de análisis bromatológico de la Universidad de Cuenca, los resultados se indican en la Tabla 28.

Tabla 28. Resultado de los análisis bromatológicos (producto final).

PARÁMETRO	RESULTADO	MÉTODO DE ENSAYO
Humedad, % P/P	---	---
Cenizas, % P/P	---	---
Fibra cruda, % P/P	---	---
Grasa, %	0,2	NTE INEN 522
Glúcidos totales, % P/P	23	R. FEHLING
Proteína bruta, % N	1	NTE INEN 519
pH	4,47	NTE INEN 0973

Fuente: Laboratorio de análisis bromatológico, Universidad de Cuenca



### 3.4. DETERMINACIÓN DE LA ACEPTACIÓN SENSORIAL DE LA BEBIDA

Para el cálculo del tamaño de la muestra a analizar se utilizó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N \sigma^2 Z^2}{(N - 1)e^2 + \sigma^2 Z^2}$$

Donde:

- n= Tamaño de la muestra
- N= tamaño de la población
- $\sigma$ = Desviación estándar de la población
- Z= nivel de confianza
- e= Limite aceptable de error

Datos:

N=250

$\sigma$ ; Cuando no se dispone de este valor, generalmente se toma un valor constante de 0,5 como desviación estándar.

Z es el nivel de confianza, que en la mayoría de las investigaciones se acepta que sea de 90 %. El valor de Z es el número de errores estándar que asociado al nivel de confianza. Este valor se obtiene de la tabla de probabilidades en la cual para un nivel de confianza del 90 % Z= 1,65

e; generalmente tiene un valor que varía entre el 1% y el 10%, el cual se escoge a criterio del investigador. Para este caso, como se tomó un nivel de confianza del 90 %, e= 10 % (0,1)

$$n = \frac{250 \times 0,5^2 \times 1,65^2}{(250 - 1)0,1^2 + 0,5^2 \times 1,65^2}$$

$$n = 54$$

Las muestras analizadas por los encuestados se expresan en la tabla 29.

Tabla 29. *Diseño experimental. Formulaciones analizadas.*

N° Formulación	Concentración de cafeína [mg/L]	Concentración de glucosa [g/100 g producto]	Concentración de sacarosa [g/100 g producto]	Pulpa de mora [ml pulpa / 10 L suero]
1	250	4	-	1000
2	320	-	8	1000
3	250	4	4	1000
4	320	8	-	1000
5	320	-	8	-

Fuente: Autor

Tabulación del resultado de las encuestas realizado a estudiantes de la carrera de Ingeniería química de la Universidad de Cuenca.

1.- ¿Consume Ud. Bebidas energéticas?

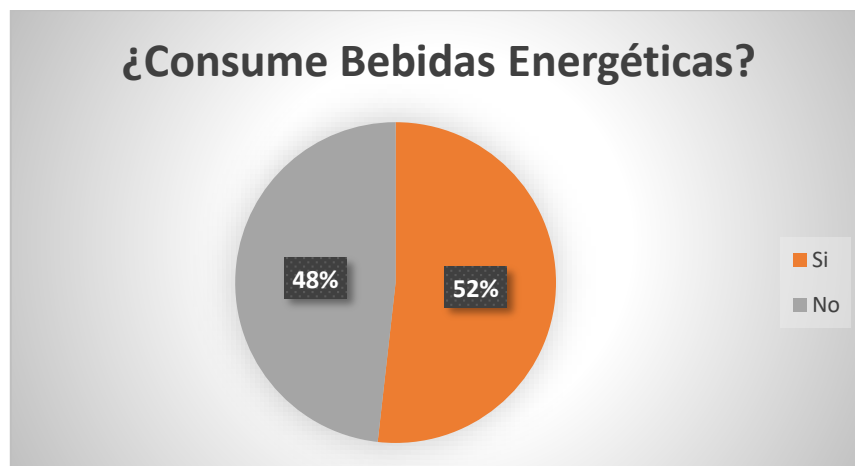


Gráfico 1: Tabulación pregunta 1. ¿Consume Bebidas energéticas?  
Fuente: Autor

2.- ¿Conoce Ud. algún tipo de producto elaborado a partir del suero lácteo que se vendan en el mercado actualmente? Si su respuesta es Si, Indique el nombre del producto.

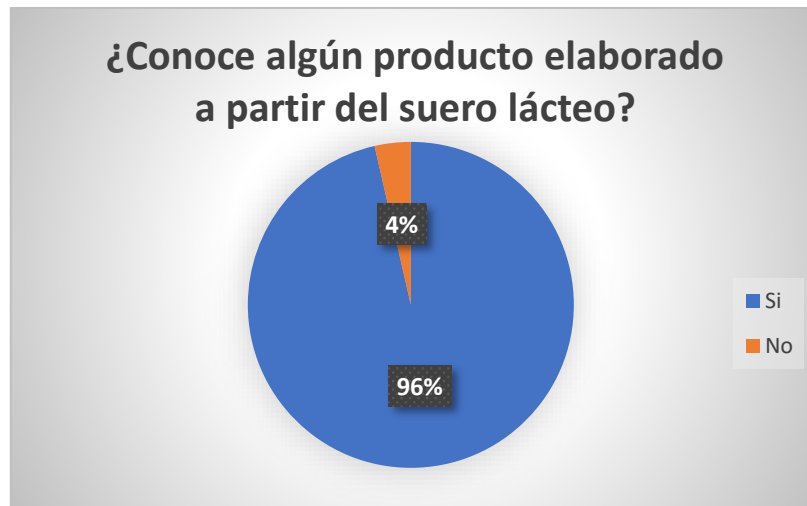


Gráfico 2: Tabulación pregunta 2. ¿Conoce algún producto elaborado a partir de suero lácteo? Fuente: Autor

Productos mencionados:

- Rivera
- Proteína de suero

3.- Califique las bebidas según la siguiente escala

- 1: Muy malo
- 2: Malo
- 3: Regular
- 4: Bueno
- 5: Muy bueno

### FORMULA 1

En la tabla 30 se observa los resultados obtenidos, de la evaluación sensorial, para la fórmula 1

Tabla 30. Tabulación de las encuestas. Evaluación sensorial de la bebida.

Parámetro	Evaluación				
	1	2	3	4	5
<b>Dulce</b>	4,26%	12,77%	27,66%	46,81%	8,51%
<b>Acidez</b>	10,64%	14,89%	38,30%	29,79%	6,38%
<b>Color</b>	2,13%	2,13%	44,68%	40,43%	10,64%
<b>Textura</b>	2,13%	21,28%	25,53%	38,30%	12,77%
<b>Aroma</b>	2,13%	8,51%	21,28%	40,43%	27,66%
<b>Sabor</b>	2,13%	6,38%	29,79%	46,81%	14,89%
<b>Total</b>	<b>3,90%</b>	<b>10,99%</b>	<b>31,21%</b>	<b>40,43%</b>	<b>13,48%</b>
<b>No Aceptable</b>		<b>Regular</b>		<b>Aceptable</b>	
<b>14,89%</b>		<b>31,21%</b>		<b>53,90%</b>	

Fuente: Autor



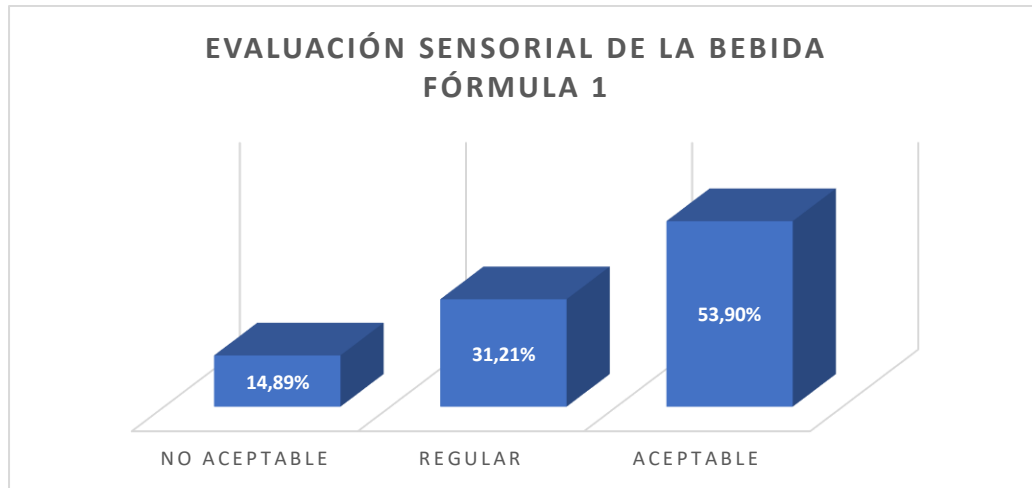


Gráfico 3: Resultado de las encuestas. Evaluación sensorial del producto. Fórmula 1.  
Fuente: Autor

El gráfico 3 indica que la fórmula 1 tuvo una aceptación del 53,9 % y un rechazo del 14,89 %. Mientras que el 31,1 % de los encuestados, califica la bebida como regular

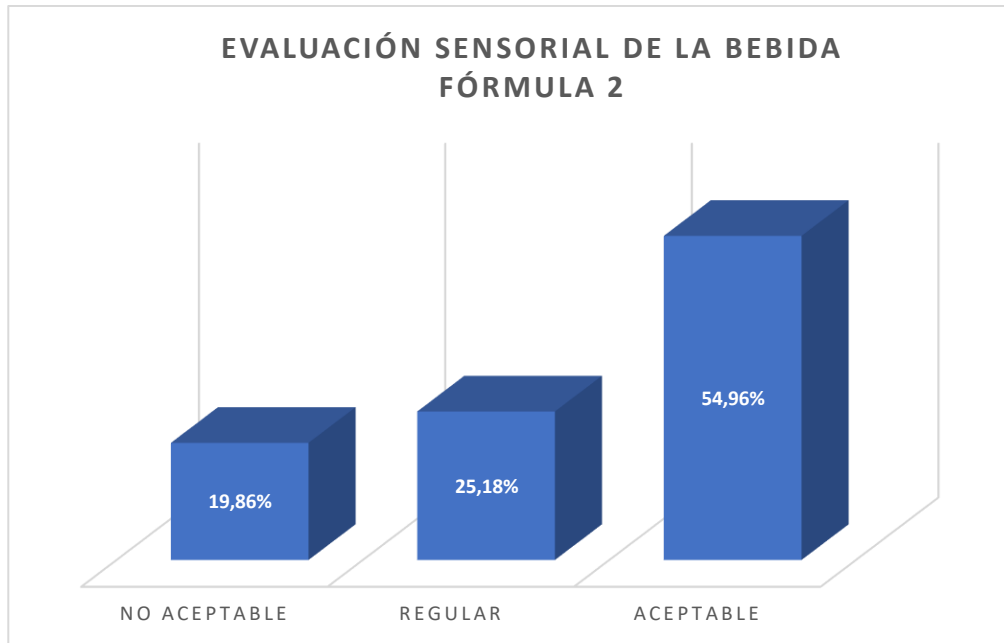
## FORMULA 2

En la tabla 31 se ilustran los resultados de la evaluación sensorial realizada a la fórmula 2.

Tabla 31. Tabulación de las encuestas realizadas. Evaluación sensorial de la bebida.  
Fórmula 2.

Parámetro	Evaluación				
	1	2	3	4	5
<b>Dulce</b>	6,38%	17,02%	19,15%	40,43%	17,02%
<b>Acidez</b>	14,89%	25,53%	23,40%	27,66%	8,51%
<b>Color</b>	2,13%	0,00%	29,79%	55,32%	12,77%
<b>Textura</b>	2,13%	6,38%	38,30%	34,04%	19,15%
<b>Aroma</b>	4,26%	10,64%	25,53%	36,17%	23,40%
<b>Sabor</b>	6,38%	23,40%	14,89%	36,17%	19,15%
<b>Total</b>	<b>6,03%</b>	<b>13,83%</b>	<b>25,18%</b>	<b>38,30%</b>	<b>16,67%</b>
<b>No aceptable</b>		<b>Regular</b>		<b>Aceptable</b>	
<b>19,86%</b>		<b>25,18%</b>		<b>54,96%</b>	

Fuente: Autor



*Gráfico 4: Resultado de las encuestas. Evaluación sensorial del producto. Fórmula 2.*  
Fuente: Autor

Como se observa en el gráfico 4, la fórmula 2 tiene un porcentaje de aceptación del 55,96 % y un porcentaje de rechazo del 19,86 %. El 25,18 % le da una calificación regular a la bebida.

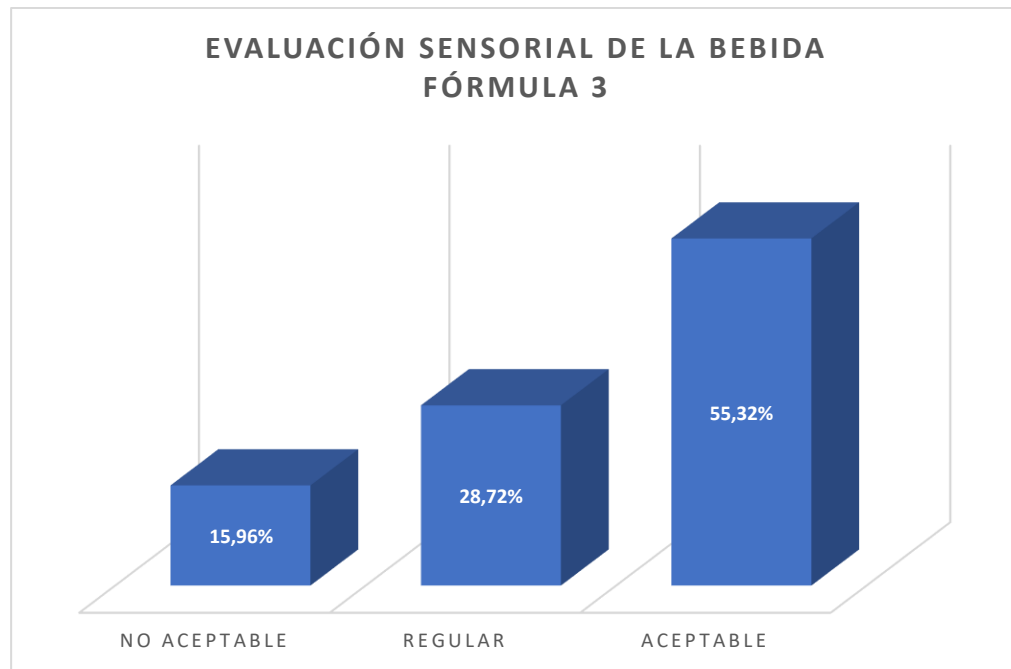
### FORMULA 3

En la tabla 32 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación sensorial de la fórmula 3.

*Tabla 32. Tabulación de las encuestas realizadas. Evaluación sensorial de la bebida.*  
Fórmula 3.

Parámetro	Evaluación				
	1	2	3	4	5
<b>Dulce</b>	4,26%	21,28%	25,53%	34,04%	14,89%
<b>Acidez</b>	8,51%	21,28%	31,91%	29,79%	8,51%
<b>Color</b>	2,13%	0,00%	25,53%	42,55%	29,79%
<b>Textura</b>	2,13%	4,26%	36,17%	44,68%	12,77%
<b>Aroma</b>	2,13%	8,51%	29,79%	29,79%	29,79%
<b>Sabor</b>	4,26%	17,02%	23,40%	40,43%	14,89%
<b>Total</b>	<b>3,90%</b>	<b>12,06%</b>	<b>28,72%</b>	<b>36,88%</b>	<b>18,44%</b>
<b>No aceptable</b>			<b>Regular</b>	<b>Aceptable</b>	
<b>15,96%</b>			<b>28,72%</b>	<b>55,32%</b>	

Fuente: Autor



*Gráfico 5: Resultado de las encuestas. Evaluación sensorial del producto. Fórmula 3.*  
Fuente: Autor

El gráfico 5 indica que la fórmula 3 tuvo un 55,32 % de aceptación, un 15,96 % de rechazo y el 28,72 % la califica como regular

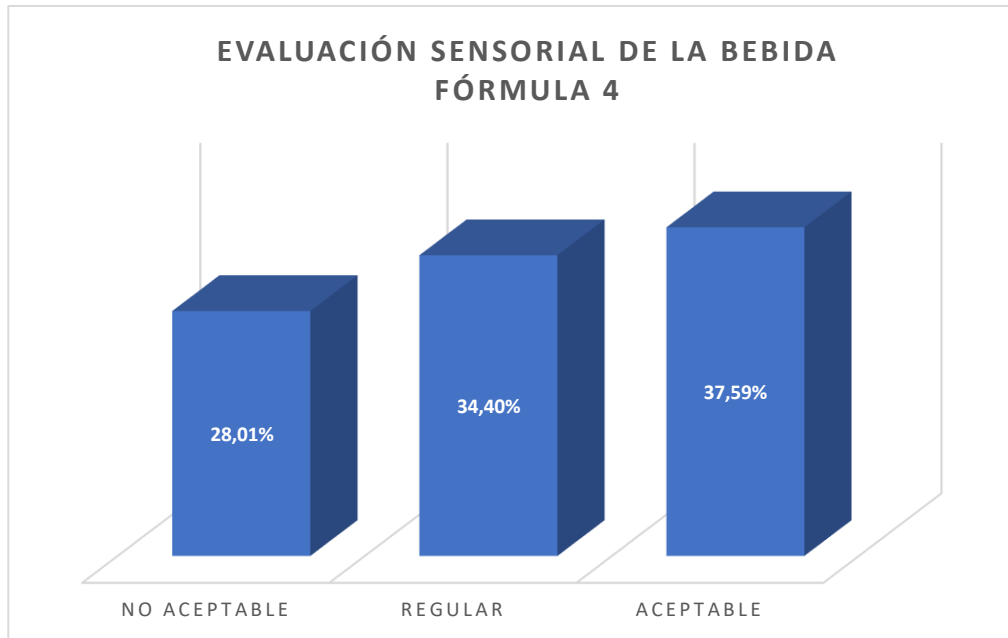
#### FÓRMULA 4

En la tabla 33 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación sensorial de la fórmula 4.

*Tabla 33. Tabulación de las encuestas realizadas. Evaluación sensorial de la bebida.*  
Fórmula 4.

Parámetro	Evaluación				
	1	2	3	4	5
<b>Dulce</b>	2,13%	23,40%	34,04%	29,79%	10,64%
<b>Acidez</b>	10,64%	19,15%	34,04%	31,91%	4,26%
<b>Color</b>	4,26%	25,53%	40,43%	23,40%	6,38%
<b>Textura</b>	0,00%	23,40%	38,30%	31,91%	6,38%
<b>Aroma</b>	4,26%	19,15%	31,91%	29,79%	14,89%
<b>Sabor</b>	8,51%	27,66%	27,66%	27,66%	8,51%
<b>Total</b>	<b>4,96%</b>	<b>23,05%</b>	<b>34,40%</b>	<b>29,08%</b>	<b>8,51%</b>
<b>No aceptable</b>			<b>Regular</b>	<b>Aceptable</b>	
<b>28,01%</b>			<b>34,40%</b>	<b>37,59%</b>	

Fuente: Autor



*Gráfico 6: Resultado de las encuestas. Evaluación sensorial del producto. Fórmula 4.  
Fuente: Autor*

Como se observa en el Gráfico 6, la fórmula 4 tuvo un 37,59 % de aceptación, un 28,01 % de rechazo y 34,4 % califica la bebida como regular.

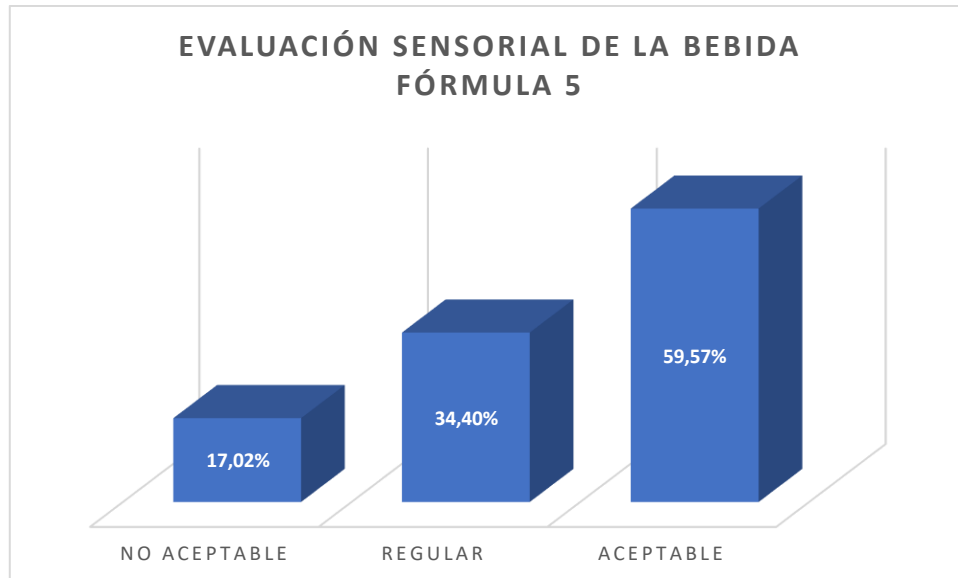
### FORMULA 5

En la tabla 34 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación sensorial de la fórmula 5.

*Tabla 34. Tabulación de las encuestas realizadas. Evaluación sensorial de la bebida.  
Fórmula 5.*

Parámetro	Evaluación				
	Muy malo	Malo	Regular	Bueno	Muy Bueno
<b>Dulce</b>	8,51%	8,51%	6,38%	48,94%	27,66%
<b>Acidez</b>	8,51%	10,64%	21,28%	38,30%	21,28%
<b>Color</b>	0,00%	25,53%	31,91%	19,15%	23,40%
<b>Textura</b>	0,00%	8,51%	36,17%	36,17%	19,15%
<b>Aroma</b>	2,13%	10,64%	25,53%	38,30%	23,40%
<b>Sabor</b>	8,51%	10,64%	19,15%	27,66%	34,04%
<b>Total</b>	<b>4,61%</b>	<b>12,41%</b>	<b>23,40%</b>	<b>34,75%</b>	<b>24,82%</b>
<b>No aceptable</b>		<b>Regular</b>		<b>Aceptable</b>	
<b>17,02%</b>		<b>34,40%</b>		<b>59,57%</b>	

Fuente: Autor



*Gráfico 7: Resultado de las encuestas. Evaluación sensorial del producto. Fórmula 4.*  
Fuente: Autor

El gráfico 7, se puede observar que la fórmula 5 tuvo un porcentaje de aceptación cercano al 60 %, un rechazo del 17 %, mientras que el 34,4 % de los encuestados califica a la bebida como regular.

Las 5 formulaciones creadas tuvieron una buena aceptación sensorial, sin embargo, las encuestas demostraron la influencia de la sacarosa en la aceptación final de la bebida. Aquellas formulaciones que tenían sacarosa en su composición tuvieron un mayor porcentaje de aceptabilidad que aquellas que no la tenían. Así entonces, se determinó que la formulación 3 tuvo mayor grado de aceptabilidad. La formulación final de la bebida energética se expresa en la tabla 35.

Tabla 35. *Formulación final de la bebida*

Concentración de acesulfame K [mg/Kg]	Concentración de cafeína [mg/L]	Concentración de glucosa [g/100 g producto]	Concentración de sacarosa [g/100 g producto]	Pulpa de mora [ml pulpa / 10 L suero]
600	250	4	4	1000

Fuente: Autor

### 3.5. DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL DE LA BEBIDA

La bebida final fue analizada por un periodo de tiempo de 31 días, en 4 condiciones de almacenamiento: Refrigeración con adición de conservante, refrigeración sin la adición de conservante, temperatura ambiente con la adición de

conservante, temperatura ambiente sin uso de conservante. Los parámetros analizados fueron: pH, °Brix, Color y sabor.

### 3.5.1. Variación del pH contra el tiempo

La tabla 36 nos muestra la variación de pH que tuvo la bebida con el tiempo:

Tabla 36. Variación del pH contra el tiempo (Bebida energizante).

DÍA	Refrigeración con conservante (A1)	Refrigeración sin conservante (A2)	Temperatura ambiente con conservante (A3)	Temperatura ambiente sin conservante (A4)
1	4,53	4,45	4,6	4,5
3	4,53	4,45	4,6	4,5
6	4,57	4,45	4,6	4,48
8	4,58	4,45	4,6	4,47
10	4,59	4,45	4,59	4,46
15	4,56	4,45	4,59	4,46
17	4,56	4,45	4,56	4,44
20	4,56	4,45	4,56	4,44
22	4,57	4,43	4,56	4,44
27	4,56	4,43	4,56	4,44
31	4,56	4,43	4,56	4,44

Fuente: Autor

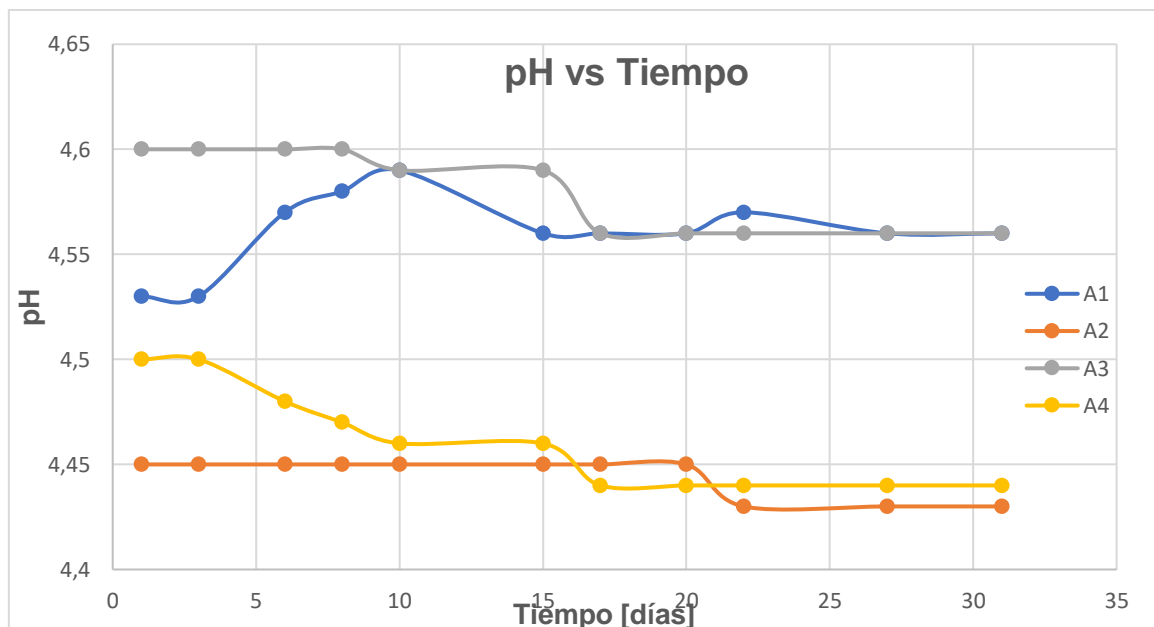


Gráfico 8: Variación del pH vs Tiempo de la bebida energizante

Fuente: Autor

En la gráfica 8, se puede observar que no existió una variación significativa del pH durante los 31 días de análisis de la bebida energizante en ninguno de los cuatro casos de análisis. La bebida no sufre cambios importantes de pH sea esta almacenada en refrigeración o a temperatura ambiente, así como con el uso o no conservantes.

### 3.5.2. Variación de los °Brix contra el tiempo

El resultado de la medición de los °Brix contra el tiempo, realizados a la bebida energizante, se presentan en la tabla 37.

Tabla 37. Variación de los °Brix contra el tiempo (bebida energizante).

DÍA	Refrigeración con conservante (A1)	Refrigeración sin conservante (A2)	Temperatura ambiente con conservante (A3)	Temperatura ambiente sin conservante (A4)
1	14,2	14,2	14,2	14,2
3	14,2	14,2	14,2	14,2
6	14,2	14,2	14,2	14,2
8	14,2	14,2	14,2	14,2
10	14,2	14,2	14,2	14,2
15	14,2	14,2	14,2	14,2
17	14,2	14,2	14	14,2
20	14,2	14,2	14	14,2
22	14,2	14,2	14	14
27	14,2	14,2	14	14
31	14,2	14,2	14	14

Fuente: Autor



Gráfico 9: Variación de los °Brix vs Tiempo de la bebida energizante  
Fuente: Autor



En la gráfica 9, se puede visualizar que la bebida energizante, almacenada en refrigeración, no presenta cambio algunos de los °Brix durante los 31 días de análisis ya sea con el uso o no de conservantes. Mientras que las bebidas almacenadas a temperatura ambiente presentan una mínima variación en los °Brix.

### 3.5.3. Variación del sabor contra el tiempo

La tabla 38 muestra el cambio en el sabor que sufrió la bebida con el tiempo. La escala, para el análisis, fue la siguiente:

- 1: No sufre cambio alguno
- 2: Sufre cambios leves
- 3: Sufre significativos

Tabla 38. *Variación del sabor contra el tiempo (bebida energizante).*

DÍA	Refrigeración con conservante (A1)	Refrigeración sin conservante (A2)	Temperatura ambiente con conservante (A3)	Temperatura ambiente sin conservante (A4)
1	1	1	1	1
3	1	1	1	1
6	1	1	1	1
8	1	1	1	1
10	1	1	1	1
15	1	1	1	1
17	1	1	1	1
20	1	1	1	1
22	1	1	1	1
27	1	1	1	1
31	1	1	1	1

Fuente: Autor

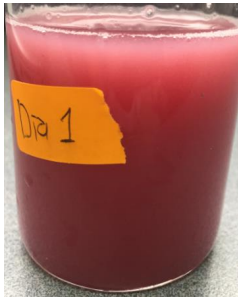
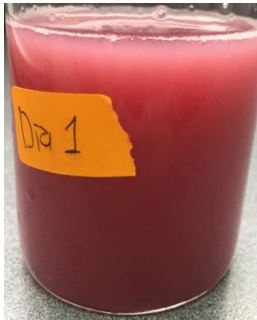
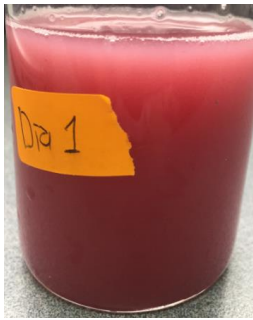
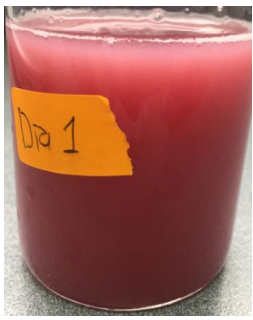
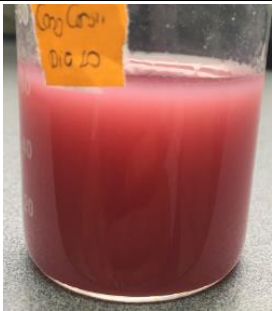
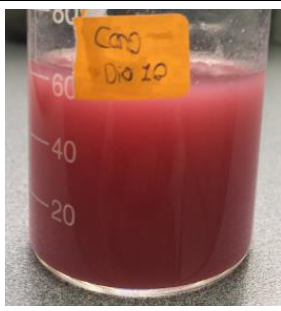
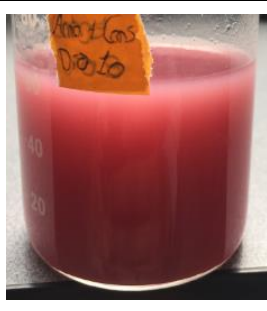
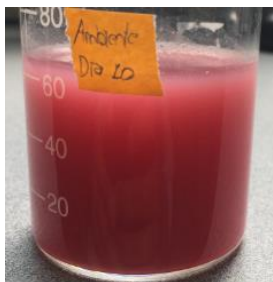

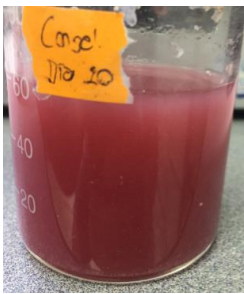
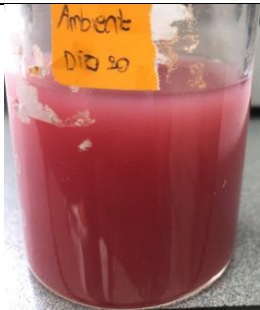
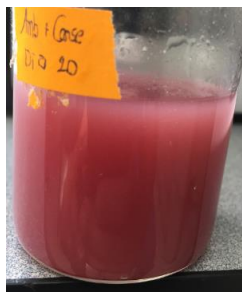
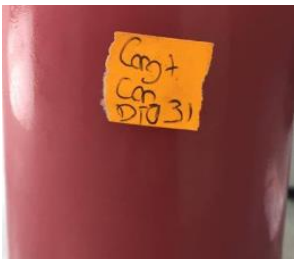



Los resultados, expuestos en la tabla 39, muestran que la bebida no mostró cambios en su sabor durante los 31 días de análisis, en ninguno de los casos de análisis.

### 3.5.4. Variación del color contra el tiempo

En la tabla 39 se muestra, con fotos, la variación del color que tuvo la bebida durante el tiempo.



Tabla 39. Variación del color contra el tiempo (Bebida energizante).

Día	Refrigeración con conservante (A1)	Refrigeración sin conservante (A2)	Temperatura ambiente con conservante (A3)	Temperatura ambiente sin conservante (A4)
1				
10				
20				
31				

Fuente: Autor

En las imágenes, de la tabla 39, se puede observar que la bebida no presentó cambio de color durante los 31 días de análisis en ninguno de los casos de estudio.

### 3.5.5. Resultado de los análisis microbiológicos del producto final

Se realizó el análisis microbiológico a la bebida fermentada, una vez transcurrido los 31 días de análisis. Los resultados obtenidos se expresan en la tabla 40.

Tabla 40. *Análisis microbiológico de la bebida energética.*

Muestra	Parámetro	Método	Unidad	Resultado	Requisito límite máximo
<b>Bebida energizante</b>	Aerobios mesófilos	NTE INEN 1529-5	UFC/g	$4 \times 10^2$	INEN 2609-2012

Fuente: Laboratorio de aguas y alimentos de la Universidad de Cuenca

Los resultados de la tabla 40 muestran que la bebida cumple con los requisitos microbiológicos establecidos en la norma INEN 2609-2012

### 3.6. INFORMACIÓN NUTRICIONAL DE LA BEBIDA

En la tabla 41 la información nutricional del producto final. La información de proteínas, grasas y carbohidratos se obtuvieron de los análisis bromatológicos realizados al producto. La información de la concentración de vitaminas presentes en la bebida se calculó de información obtenida de referencias bibliográficas y se asumió que, estos componentes presentes en el suero lácteo bruto forman parte del producto final (bebida energética).

Tabla 41. *Información nutricional del producto final.*

Componente	Concentración g/100 ml	Necesidades diarias
<b>Proteína</b>	1 %	50 g
<b>Grasa</b>	0,2 %	20 mg
<b>Glúcidos totales</b>	23 %	300 g
<b>VITAMINAS</b>		
<b>B1 (tiamina)</b>	0,038 %	1,5 mg
<b>B2 (riboflavina)</b>	0,12 %	1,7 mg
<b>B3 (ácido nicotínico)</b>	0,085	20 mg
<b>B5 (ácido pantoténico)</b>	0,34 %	10 mg
<b>B6 (piridoxina)</b>	0,042 %	2 mg
<b>B12 (cobalamina)</b>	0,0003 %	2 mg
<b>Ácido ascórbico (vitamina C)</b>	0,22 %	60 mg

Fuente: Autor/ (Linden et al., 1994)



#### 4. CONCLUSIONES

El suero lácteo, obtenido como subproducto en el proceso de elaboración de quesos, cumple con los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos establecidos en la norma NTE INEN 2594, 2011. Este subproducto generalmente se desecha y desperdicia como un efluente, causando una importante contaminación ambiental en las fuentes de agua donde es vertida. La formulación de una bebida energética representa una buena alternativa para el uso del suero lácteo, debido a que este contiene una importante cantidad de nutrientes como son las proteínas y vitaminas, las mismas que generalmente forman parte de la composición de las bebidas energéticas que actualmente se comercializan en el Ecuador.

La clarificación del suero lácteo es uno de los procesos más importantes en la elaboración de la bebida ya que esto nos permite obtener un suero limpio y libre de partículas extrañas. En los distintos experimentos de clarificación realizados, el carbón activado, dio como resultado un suero bastante claro y limpio, sin embargo, este produjo una importante pérdida de proteínas en el suero. Por otra parte, la gelatina y albumina produjeron un suero menos clarificado que el anterior caso y sin pérdida alguna de proteínas. Finalmente se determinó que la clarificación con carragenato de sodio producía un suero bastante claro y limpio que a su vez no genera pérdida de proteínas en su composición.

Adicionalmente se determinó que la utilización de una tela tipo velo, como filtro, mejoraba considerablemente la textura del producto final, sin embargo, esto produjo una pérdida considerable de proteínas en la bebida energética.

Se desarrolló una formulación ideal para la bebida energética. Se evidenció la influencia de la sacarosa en la aceptación final de la bebida por parte de los encuestados. De las formulaciones analizadas, se determinó que aquellas bebidas que contenían sacarosa en su composición mostraron una mayor aceptación, mientras que aquellas bebidas que contenían glucosa en mayor cantidad tuvieron poca o nada aceptación. Así entonces, se obtuvo la siguiente formulación: Pulpa de mora (10%), acesulfame K (600 mg/Kg), cafeína (250 mg/L), glucosa (4 %) y sacarosa (4%).

Los análisis físico-químicos realizados al producto final, determinaron que la bebida energética contiene 1 % de proteína, 0,2 % de grasa y 23 % de glúcidos totales, de los cuales únicamente el 8 % fueron adicionados como glucosa y sacarosa. Se concluye entonces, que el producto final es una bebida energética con un contenido significativo de proteínas, medio de azúcar, bajo en grasa y sin contenido de sales. Por otra parte, si se toma en cuenta la información nutricional, obtenida de fuentes



bibliográficas, se puede decir que la bebida contiene una importante cantidad de vitaminas del grupo B, lo que contribuye al aumento del rendimiento energético del producto.

Le evaluación sensorial de la bebida energética (olor, color, sabor, acidez, textura, dulce) realizado en las encuestas, dio como resultado a la formulación 3 como la más aceptables, teniendo un porcentaje de aceptación, como muy bueno, del 55,32 %.

De acuerdo con los análisis de pH, °Brix, color y sabor realizados, la bebida no presento cambios significativos, en ninguno de los cuatro casos de análisis, durante 31 días. Los análisis microbiológicos realizados al producto final, luego del tiempo establecido, mostraron que la bebida no presenta proliferación de microorganismos por lo que se puede concluir que los procesos de pasteurización y sellado al vacío contribuyen a que el producto tenga una larga vida de anaquel. No es necesario refrigeración ni el uso de conservantes para la conservación del producto.

En cuanto a las condiciones de almacenamiento de la bebida, se determinó que al almacenarlo temperaturas de refrigeración (4 °C) se forma una capa de caseína color blanco en la superficie del líquido, lo que le da mal aspecto al producto. Por lo que se llegó a la conclusión que el mejor método de almacenamiento es a temperatura ambiente.

## **5. RECOMENDACIONES**

Se debe potenciar y trabajar más sobre el desarrollo de nuevos productos a base de suero lácteo, de esta manera se logrará optimizar los recursos de la industria quesera, al mismo tiempo que se contribuye a la disminución de la contaminación de ríos y efluentes por desecho del suero.

Dar mayor resalte al consumo de productos a base de suero lácteo, que tienen una excelente calidad nutritiva, lo que contribuirá a solucionar los problemas de nutrición y la falta de alimentos ricos en nutrientes a un costo adecuado.



## 6. BIBLIOGRAFIA

- Cervera, P., Clapés, J., & Rigolfas, R. (2001). *Alimentación*. McGraw-Hill. Interamericana.
- Cuellas, A., & Wagner, J. (2010). Elaboración de bebida energizante a partir de suero de quesería. *Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay. INNOTECH*, 5, 54.
- Giles, G. E., Mahoney, C. R., Brunyé, T. T., Gardony, A. L., Taylor, H. A., & Kanarek, R. B. (2012). Differential cognitive effects of energy drink ingredients: caffeine, taurine, and glucose. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 102(4), 569–577.
- HELM DE MEXICO S.A.: Acesulfame K. (s. f.). Recuperado 28 de mayo de 2018, a partir de <https://www.helmmexico.com/es/productos/nutricion/productos/detalle/product/acesulfame-k-1/>
- Hernández-Rojas, M., & Vélez-Ruiz, J. F. (2014). Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. *Temas Sel Ing Aliment*, 8(2), 13–22.
- Higgins, J. P., Tuttle, T. D., & Higgins, C. L. (2010). Energy beverages: content and safety. En *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 85, pp. 1033–1041). Elsevier.
- Ibáñez, F., Torre, P., & Irigoyen, A. (2003). Aditivos alimentarios. *Área de nnnnNutrición y Bromatología, Universidad Pública de Navarra*.
- Linden, G., Lorient, D., & Carballo García, F. J. (1994). *Bioquímica agroindustrial: revalorización alimentaria de la producción agrícola*.
- Loaiza, M. (2011). Aprovechamiento del suero de leche para la elaboración de una bebida funcional. *Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias, Universidad de las Américas*. Tomado de: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/87/1/TIA-2011-7.pdf>.
- Lozano, R. P., García, Y. A., Tafalla, D. B., & Albaladejo, M. F. (2007). Cafeína: un nutriente, un fármaco, o una droga de abuso. *Adicciones*, 19(3), 225–238.
- Malinauskas, B. M., Aeby, V. G., Overton, R. F., Carpenter-Aeby, T., & Barber-Heidal, K. (2007). A survey of energy drink consumption patterns among college students. *Nutrition journal*, 6(1), 35.
- Mazzafera, P., de Carvalho Gonçalves, J. F., SCHIMPL, F. C., & DA SILVA, J. F. (2013). Guarana: Revisiting a highly caffeinated plant from the Amazon.
- Melgarejo, M. (2011). El verdadero poder de las bebidas energéticas.
- Poveda, E. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Revista chilena de nutrición*, 40(4), 397–403.



- Ramírez-Perú, A. L., & Puente-Vidal, W. (2016). CARACTERIZACIÓN DEL SUERO DE QUESO BLANCO DEL COMBINADO LÁCTEO SANTIAGO. *Tecnología Química*, 31(3), 93–100.
- Vinza, A., Elena, M., & Ramos Sandoval, E. V. (2015). Diseño y construcción de un Bioreactor para la obtención de una bebida energizante del suero de la leche (B.S. thesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- INEN 2594. (2011). SUERO DE LECHE. REQUISITOS. Obtenido de: <https://studylib.es/doc/6353148/nte-inen-2594--suero-de-leche-l%C3%ADquido.-requisitos>
- INEN 2411. (2015). BEBIDAS ENERGÉTICAS. REQUISITOS. Obtenido de: <https://studylib.es/doc/8154430/nte-inen-2411---servicio-ecuatoriano-de-normalizaci%C3%B3n>
- INEN 0012. (s.f.). LECHE. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA. Obtenido de: <https://studylib.es/doc/4799582/nte-inen-0012--leche.-determinaci%C3%B3n-del-contenido-de-grasa>
- INEN 0016. (s.f.). LECHE. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS. Obtenido de: <https://es.scribd.com/document/325512888/Nte-0016-Proteina-en-Leche>
- INEN 0013. (s.f.). LECHE. DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE. Obtenido de: <https://archive.org/stream/ec.nte.0013.1984#page/n5/mode/2up>
- INEN 0973. (s.f.). AGUA POTABLE. DETERMINACIÓN DEL PH. Obtenido de: <https://ia601903.us.archive.org/35/items/ec.nte.0973.1984/ec.nte.0973.1984.pdf>
- INEN 2594. (2011). SUERO DE LECHE LÍQUIDO. REQUISITOS. Obtenido de: <https://studylib.es/doc/6353148/nte-inen-2594--suero-de-leche-l%C3%ADquido.-requisitos>
- INEN 1529-5. (2006). CONTROL MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS. REP. Obtenido de: <https://studylib.es/doc/4562968/nte-inen-1529-5--control-microbiol%C3%B3gico-de-los-alimentos>
- INEN 1529-6. (1990). CONTROL MICROBIOLOGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS COLIFORMES POR LA TÉCNICA DEL NÚMERO MAS PROBABLE. <https://es.scribd.com/document/369454421/Inen-1529-6-Determinacion-de-Microorganismos-Coliformes>
- INEN 1529-8. (1990). CONTROL MICROBIOLOGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE COLIFORMES Y E. coli. Obtenido de:





<https://ia801008.us.archive.org/15/items/ec.nte.1529.8.1990/ec.nte.1529.8.1990.pdf>

- INEN 1529-14. (2013). CONTROL MICROBIOLOGICO DE ALIMENTOS. STAPHYLOCOCCUS AUREUS. RECUENTO EN PLACA DE SIEMBRA POR EXTENSIÓN EN SUPERFICIE. Obtenido de: <https://es.scribd.com/document/240179977/INEN-1529-14-2014-Staphylococcus-Aureus-Recuento-en-Placa>
- INEN 1529-15. (2009). CONTROL MICROBIOLOGICO DE LOS ALIMENTOS. SALMONELLA. MÉTODO DE DETECCIÓN. Obtenido de: <https://studylib.es/doc/7247396/nte-inen-1529-15--control-microbiol%C3%B3gico-de-los-alimentos>
- Itany M, Diab B, Rachidi S, Awada S, Al Hajje A, Bawab W, et al. Consumption of energy drinks among lebanese youth: a pilot study on the prevalence and side effects. *Int J High Risk Behav Addic.* 2014;3: e18857. 2. doi: 10.5812/ijhrba.18857. eCollection 2014.
- Ministerio de industrias y productividad. (2014). LA INDUSTRIA LECHERA BUSCA GENERAR MAYOR VALOR AGREGADO PARA SUMARSE AL CAMBIO DE LA MATRIZ PRODUCTIVA. Obtenido de: <https://www.industrias.gob.ec/bp-072-la-industria-lechera-busca-generar-mayor-valor-agregado-para-sumarse-al-cambio-de-la-matriz-productiva/>
- Ediciones Legales. (2013). Reglamento sanitario de etiquetado de alimentos procesados para el consumo humano (Acuerdo N° 00004522). Recuperado el 07 de noviembre de 2018, de: <https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/08/REGLAMENTO-SANITARIO-DE-ETIQUETADO-DE-ALIMENTOS-PROCESADOS-PARA-EL-CONSUMO-HUMANO-junio-2014.pdf>

## 7. ANEXOS

### 7.1. Anexo 1: Resultado de los análisis

Análisis microbiológico: Suero lácteo pasteurizado



#### Datos de recepción

Solicitado por: Sr. José Luis Pérez  
Muestras: Suero lácteo pasteurizado

Fecha informe: 09 de octubre de 2018  
Fechas de análisis: 02 al 09 de octubre de 2018  
N° de muestras: 1  
Procedencia: Muestras entregadas en el laboratorio por la persona interesada.

Inspección de la muestra: Recolectadas en recipientes plásticos cantidad aproximada 300ml.

Fecha de elaboración: muestras elaboradas el 01/10/2018

#### INFORME DEL RESULTADOS

MUESTRA	PARÁMETRO	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADO
Suero lácteo pasteurizado	Coliformes totales	NTE INEN 1529-6	NMP/ml	< 3
	Coliformes fecales	NTE INEN 1529-6	NMP/ml	< 3
	Salmonella	NTE INEN ISO 6579		Ausencia/25 gramos
	Aerobios mesófilos	NTE INEN 1529-5	UPC/g	3 x 10 <sup>2</sup>

Se siguieron las siguientes normas INEN

1529-1 Preparación de los medios de cultivo

1529-2 Toma, envío y preparación de muestras para el análisis

NMP/ml= Número más probable por ml de muestra

UPC= Unidades formadoras de colonia

NTE= Norma Técnica Ecuatoriana

Método: Tubos múltiples

< 3 NMP/ml, significa que en el ensayo del NMP utilizando 3 series de 3 tubos ninguno es positivo.

Valor del análisis: USD \$ 60,00

IVA 12% \$ 7,20

Total a cancelar: USD \$ 67,20

  
Ing. María Montaleza  
Químico-Analista

UNIVERSIDAD DE CUENCA  
Facultad de Ciencias Químicas  
Laboratorio Tecnológico

Av. 12 de Abril y Av. Loja S/N.  
Teléfono: 405 1000 Ext. 24 (0) - 24 21  
CUENCA - ECUADOR





Análisis bromatológico: Producto final



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**LABORATORIO DE ANÁLISIS BROMATOLÓGICO**

0838

**Resultado de Análisis**

Análisis de: Bebida a base de suero lícito sabor a mora  
 Solicitado por: Sr. José Luis Pérez  
 Número de muestras: 1  
 Fecha de análisis: 15 al 22 de octubre de 2018  
 Fecha de informe: 22 de octubre de 2018  
 Procedencia: Muestra entregada en este laboratorio  
 Número de lote: No contiene

**Inspección de la muestra:** Muestras en envase de vidrio, cantidad aproximada 200ml.

PARÁMETRO/ N° DE MUESTRA:	1			Método de Ensayo
Humedad, % P/P	-----			
Cenizas % P/P	-----			
Fibra Cruda % P/P	-----			NTE INEN 522
Grasa %	0,2			GERBER
Glúcidos Totales % P/P	23			R. FEHLING
Proteína Bruta, % N	1			NTE INEN 519
pH	-----			

VALOR DEL ANÁLISIS: 72+ IVA

  
ANALISTA

UNIVERSIDAD DE CUENCA  
Facultad de Ciencias Químicas  
Laboratorio Tecnológico

B.Q.F. María Montaleza  
NOMBRE

Av. 12 de Abril y Av. Loja S/N  
Teléfono: 4051000 ext 2425  
maria.montaleza@ucacusa.edu.ec  
Cuenca Ecuador

Análisis microbiológico: Producto final



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
LABORATORIO DE ANÁLISIS DE AGUA Y ALIMENTOS  
Análisis Microbiológico

**Datos de recepción**

Solicitado por: Sr. José Luis Pérez  
Muestras: Bebida láctea sabor a mora  
Fecha informe: 19 de noviembre de 2018  
Fechas de análisis: 12 al 19 de noviembre de 2018  
N° de muestras: 1  
Procedencia: Muestras entregadas en el laboratorio por la persona interesada.

Inspección de la muestra: Recolectada en recipiente de vidrio cantidad aproximada 300ml.  
Fecha de elaboración: muestra elaborada el 10/10/2018

**INFORME DEL RESULTADOS**

MUESTRA	PARÁMETRO	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADO
Bebida láctea sabor a mora	Aerobios mesófilos	NTE INEN 1529-5	UFC/g	$4 \times 10^2$

Se siguieron los siguientes normas INEN:  
1529-1 Preparación de los medios de cultivo  
1529-2 Toma, envío y preparación de muestras para el análisis  
NMMPintal= Número más probable por ml de muestra  
UFC= Unidades formadoras de colonia  
NTE= Norma Técnica Ecuatoriana  
Método: Tubos múltiples  
-> NMMPintal= significa que en el ensayo del NMMP utilizando 3 series de 3 tubos ninguno se positivó.

Valor del análisis: USD \$ 12,00  
IVA 12% \$ 1,44  
Total a cancelar: USD \$ 13,44

  
BqE. María Mena  
Químico-Analista

UNIVERSIDAD DE CUENCA  
Facultad de Ciencias Químicas  
Laboratorio Tecnológico



Av. 12 de Abril y Av. Loja S/N.  
Teléfono: 405 1000 Ext. 34 10 - 34 21  
CUENCA - ECUADOR

UNIVERSIDAD DE CUENCA  
CREANDO VIDA

**7.2. Anexo 2: Encuesta**

**UNIVERSIDAD DE CUENCA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS  
INGENIERIA QUÍMICA**

**ENCUESTA DE ACEPTACIÓN DE UN PRODUCTO, A BASE DE SUERO LACTEO,  
DIRIGIDA A JOVENES UNIVERSITARIOS**

La presente encuesta tiene por objetivo analizar la aceptación sensorial de una bebida energética, elaborada a partir del suero lácteo, en estudiantes universitarios- La bebida está compuesta por cafeína como fuente energética y endulzada con edulcorantes naturales no calóricos como acesulfame K y glucosa, así como también con sacarosa (azúcar de mesa).

**DATOS GENERALES**

Sexo: Masculino \_\_\_\_ Femenino \_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

**PREGUNTAS**

1. **¿Consume Ud. Bebidas energéticas? Si su respuesta es Si, indique la frecuencia con que las consume.**

Si \_\_\_\_ No \_\_\_\_

**Frecuencia de consumo:**

Diariamente \_\_\_\_

Una vez a la semana \_\_\_\_

Dos veces a la semana \_\_\_\_

Tres veces a la semana \_\_\_\_

Mensualmente \_\_\_\_

2. **¿Conoce Ud. algún tipo de bebida elaborada a partir del suero lácteo que se vendan en el mercado actualmente? Si su respuesta es Si, Indique el nombre de la bebida.**

Si \_\_\_\_ No \_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### 3. Califique las siguientes bebidas según la siguiente escala

- 1: Muy malo  
2: Malo  
3: Regular  
4: Bueno  
5: Muy bueno

Marque con una X

F1					
Parámetro	Evaluación				
Dulce	1	2	3	4	5
Acidez	1	2	3	4	5
Color	1	2	3	4	5
Textura	1	2	3	4	5
Aroma	1	2	3	4	5
Sabor	1	2	3	4	5

F2					
Parámetro	Evaluación				
Dulce	1	2	3	4	5
Acidez	1	2	3	4	5
Color	1	2	3	4	5
Textura	1	2	3	4	5
Aroma	1	2	3	4	5
Sabor	1	2	3	4	5

F3					
Parámetro	Evaluación				
Dulce	1	2	3	4	5
Acidez	1	2	3	4	5
Color	1	2	3	4	5
Textura	1	2	3	4	5
Aroma	1	2	3	4	5
Sabor	1	2	3	4	5

F4					
Parámetro	Evaluación				
Dulce	1	2	3	4	5
Acidez	1	2	3	4	5
Color	1	2	3	4	5
Textura	1	2	3	4	5
Aroma	1	2	3	4	5
Sabor	1	2	3	4	5



F5					
Parámetro	Evaluación				
Dulce	1	2	3	4	5
Acidez	1	2	3	4	5
Color	1	2	3	4	5
Textura	1	2	3	4	5
Aroma	1	2	3	4	5
Sabor	1	2	3	4	5

4. ¿Qué bebida le gustó más?

F1\_\_\_ F2\_\_\_ F3\_\_\_ F4\_\_\_ F5\_\_\_

5. ¿Compraría Ud. ¿Este tipo de bebida?

Si\_\_\_ No\_\_\_

6. ¿Cuánto estaría Ud. dispuesto a pagar por esta bebida?

\$0,75 \_\_\_

\$1 \_\_\_

\$1,50 \_\_\_

\$2 \_\_\_

### 7.3. Etiqueta final. Bebida energética

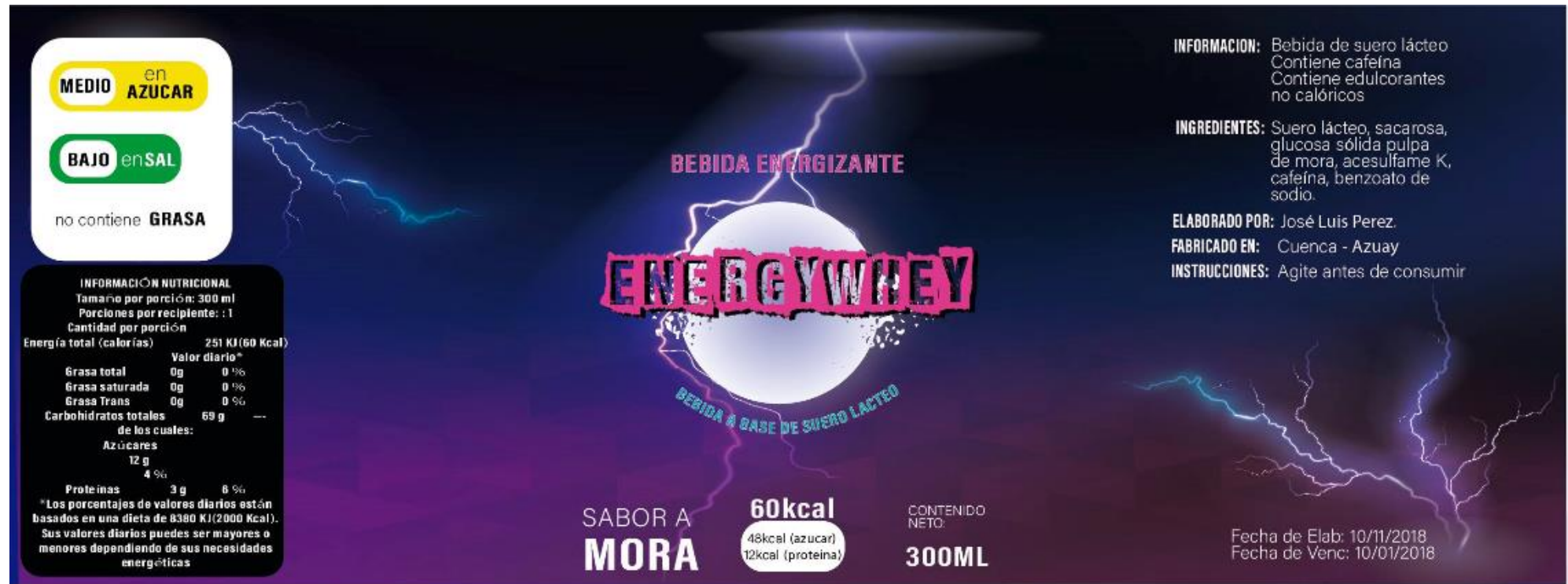


Imagen 6: Etiqueta. Bebida energética

Nota: El semáforo nutricional fue calculado de acuerdo con los parámetros establecidos en según la norma "RTE INEN 022 (2R) ROTULADO DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS, PROCESADOS ENVASADOS Y EMPAQUETADOS (Resolución 14511, 2014)"

#### 7.4. Anexo 4: Fotografías

##### Elaboración de la bebida



Imagen 7: Filtración del suero lácteo



Imagen 8: Pasteurización del suero lácteo



Imagen 9: Clarificación del suero lácteo



Imagen 10: Dosificación de ingredientes



Imagen 11: Pasteurización de la fruta (mora)



Imagen 12: Licuado de la fruta (mora)





Imagen 13: Envasado de la pulpa de fruta (mora)



Imagen 14: Esterilización de envases



Imagen 15: Generación de vacío (baño maría)



Imagen 16: Envasado y almacenamiento del producto final



Imagen 17: Productos finales



## Análisis y encuestas



Imagen 18: Determinación de la acidez del suero lácteo



Imagen 19: Determinación del pH del suero lácteo



Imagen 20: Encuestas de aceptación del producto